



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

Grado en Ingeniería Alimentaria

Los ultrasonidos como alternativa a la desinfección con hipoclorito: efectos sobre la vida útil en boniato (*Ipomoea batatas*) mínimamente procesado

Realizado por:

Estrella Ginés Rodríguez

Tutores:

Isabel Achaerandio

Montserrat Pujolà Cunill

Castelldefels, junio del 2014

Agradecimientos

Agradezco a Isabel Achaerandio y a Montserrat Pujolà Cunill por sus observaciones y claridad. A ellas les digo, gracias por su apoyo académico, por sus correcciones y sus calidades humanas, que han sido invaluable para mí.

Agradezco a todas las personas que me acompañaron y ayudaron en el transcurso de este trabajo final de grado, en especial a Mónica Hernanz, Meritxell Román, Edurne Simón y Carolina Martínez, que aportaron con sus críticas comentarios y sugerencias a lo largo del desarrollo de este escrito y en mi formación en la escuela. Gracias por su amistad y apoyo.

Finalmente agradezco a toda mi familia y amigos que me acompañaron en el proceso y supieron darme todo su apoyo en los momentos difíciles, a ellos les digo que no hay palabras para expresar todo mi cariño porque son una parte importante de mí; espero que todos mis logros académicos y profesionales sean una parte tangible de toda la gratitud que les debo.

Estrella Ginés Rodríguez

Resumen

En un producto vegetal mínimamente procesado el desarrollo microbiano está influido directamente por la microbiota proveniente de la materia primera cruda recolectada y por las condiciones de procesado. Su comercialización está regulada por la legislación española. Aunque en la actualidad los tratamientos de desinfección son mayoritariamente a base de derivados clorados, los tratamientos físicos como los ultrasonidos pueden ser una alternativa para evitar los inconvenientes de los productos químicos. El objetivo de este trabajo es contrastar el efecto de la aplicación de los ultrasonidos de alta potencia (con una frecuencia de 42 kHz) con una solución de hipoclorito (150 ppm) y el lavado con agua (control) en boniato mínimamente procesado a diferentes tiempos de inmersión (15, 20 y 25 minutos) sobre la microbiota inicial y la evolución de la población microbiana durante 14 días en refrigeración (4 ± 2 °C). Para la evaluación microbiológica se escogieron varios grupos de microorganismos, aerobios y anaerobios mesófilos, psicrófilos, así como mohos y levaduras. Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento con ultrasonidos de alta potencia y a los tiempos de inmersión aplicados fue efectivo para reducir significativamente la carga microbiana, siendo los aerobios psicrófilos y los hongos los más sensibles y los aerobios y anaerobios mesófilos los más resistentes. Sin embargo, el tratamiento desinfección más eficaz en todos los grupos de microorganismos evaluados fue la solución de hipoclorito de 20 y 25 minutos de inmersión, aunque el tratamiento de ultrasonidos de alta potencia durante 25 minutos consiguió resultados similares. En todos los tratamientos y tiempos de inmersión estudiados la calidad microbiológica del boniato mínimamente procesado estuvo limitada por el crecimiento de anaerobios mesófilos y sus posibles patógenos.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se puede proponer seguir investigando el efecto de los ultrasonidos de alta potencia para su implantación a nivel industrial, como una alternativa a la desinfección con soluciones de hipoclorito o como complemento a las mismas.

Palabras clave: IV gama, tratamiento físico, reducción microbiana y atmósfera pasiva.

Resum

En un producte vegetal mínimament processat el desenvolupament microbià està influït directament per la microbiota provinent de la matèria primera crua recollida i per les condicions de processament. La seva comercialització està regulada per la legislació espanyola. Encara que en l'actualitat els tractaments de desinfecció són majoritàriament a força de derivats clorats, els tractaments físics com els ultrasons poden ser una alternativa per evitar els inconvenients dels productes químics. L'objectiu d'aquest treball és contrastar l'efecte de l'aplicació d'ultrasons d'alta potència (amb freqüència de 42 kHz) amb una solució d'hipoclorit (150 ppm) i el rentat amb aigua (control) en moniato mínimament processat a diferents temps d'immersió (15 , 20 i 25 minuts) sobre la microbiota inicial i l'evolució de la població microbiana durant 14 dies en refrigeració (4 ± 2 °C). Per a l'avaluació microbiològica es van escollir diferents grups de microorganismes, aerobis i anaerobis mesòfils, psicròfils, així com fongs i llevats. Els resultats obtinguts mostren que el tractament amb ultrasons d'alta potència i als temps d'immersió aplicats, va ser efectiu per reduir significativament la càrrega microbiana, sent els aerobis psicròfils i els fongs i llevats els més sensibles i els aerobis i anaerobis mesòfils els més resistents. No obstant això, el tractament de desinfecció més eficaç en tots els grups de microorganismes avaluats va ser la solució de hipoclorit amb 20 i 25 minuts d'immersió, encara que el tractament d'ultrasons d'alta potència durant 25 minuts va aconseguir resultats similars, sent aquest el seu temps d'immersió idoni. En tots els tractaments i temps d'immersió estudiats la qualitat microbiològica del moniato mínimament processat va estar limitada pel creixement de anaerobis mesòfils i dels seus patògens. Tenint en compte els resultats obtinguts, es pot proposar seguir investigant l'efecte dels ultrasons d'alta potència per a la seva implantació a nivell industrial, com una alternativa a la desinfecció amb solucions clorades o com a complement a les mateixes.

Paraules clau: IV gamma, tractament físic, reducció microbiana i atmosfera passiva.

Abstract

In a minimally processed product made from vegetables, the microbial growth is directly influenced by the microbiota from the raw feedstock collected and the processing conditions. Its commercialization is regulated by the Spanish law. Despite that, nowadays the use of sanitizing treatments with chlorate derivatives is widespread. Physical treatments like ultrasound can be an alternative to avoid the use of chemical products. The aim of this work is to compare the effect of the application of high power ultrasounds (with a frequency of 42 kHz), a hypochlorite solution (150 ppm) and the washing with water (control) in a minimally processed sweet potato during different immersion times (15, 20 and 25 minutes) over the initial microbiota and the evolution of the microbial population during 14 days under refrigeration (4 ± 2 °C). In order to do the microbiological evaluation, some microorganisms groups were chosen: aerobic mesophilic, anaerobic mesophilic, aerobic psychrophilic bacteria and moulds and yeasts. The obtained results show that the treatment with high power ultrasounds at the immersion times applied was effective: it reduced considerably the microbial load, being the most sensitive the aerobic psychrophilic bacteria and the moulds and yeasts and the aerobic and anaerobic mesophilic bacteria the most resistant. However, the disinfection treatment more effective was the chlorate solution, during 20 and 25 minutes yielded; but the high power ultrasound treatment during 25 minutes yielded similar results. In all the treatments and immersion times studied, the microbiological quality of the minimally processed sweet potato was limited by the growth of anaerobic mesophilic bacteria and their pathogens.

Taking into account the data obtained, it can be proposed to keep on investigating the effects of the high power ultrasounds for an industrial implementation as an alternative to disinfection with chlorate solutions or as a complement thereof.

Keywords: IV gamma, physical treatment, microbial reduction and passive atmosphere.

INDICE GENERAL

1. Introducción	1
1.1. El boniato.....	1
1.1.1. Características microbiológicas	2
1.2. La vida útil en el procesamiento mínimo de vegetales	6
1.3. Tratamientos desinfectantes en el procesamiento mínimo	6
1.3.1. Tratamientos físicos	11
1.3.1.1. Los ultrasonidos y su efecto sobre las células vivas	16
2. Objetivos	21
3. Materiales y métodos	23
3.1. Materia prima	23
3.2. Equipos	23
3.3. Material de envasado	23
3.4. Diseño experimental	24
3.5. Diseño y métodos evaluación microbiológica	26
3.5.1. Diseño de la evaluación microbiológica	26
3.5.2. Métodos evaluación microbiológica	27
3.5.2.1. Preparación de la muestra (ISO 6887-1:1999).....	27
3.5.2.2. Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, anaerobios mesófilos y aerobios psicrófilos	28
3.5.2.3. Recuento total de mohos y levaduras.....	28
3.6. Análisis estadístico	28
4. Resultados y discusión	29
4.1. Población microbiana inicial de la materia prima	29
4.2. Efectos de los tratamientos sobre la carga microbiana en el boniato mínimamente procesado	30
4.2.1. Aerobios mesófilos	30
4.2.2. Anaerobios mesófilos	32
4.2.3. Aerobios psicrófilos	33
4.2.4. Mohos y levaduras	34
4.2.5. Tratamiento desinfectante más efectivo.....	35
4.3. Evolución de la carga microbiana durante el almacenamiento del boniato mínimamente procesado	36
4.3.1. Aerobios mesófilos	36
4.3.2. Anaerobios mesófilos	38
4.3.3. Aerobios psicrófilos	40
4.3.4. Mohos y levaduras	42
5. Conclusiones	43

6. Referencias bibliográficas	45
7. Recursos electrónicos	49
8. Anexos.....	51
8.1. Film semipermeable	51
8.2. Barqueta	52
8.3. Medio cultivo mohos y levaduras.....	53
8.4. Medio cultivo aerobio mesófilo, y psicrófilo y anaerobio mesófilo.....	55
8.5. Agua peptonada	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones recomendadas para el almacenamiento de boniato.	1
Tabla 2. Composición nutricional del boniato fresco.....	2
Tabla 3. Géneros de bacterias alteradoras halladas en tubérculos.....	3
Tabla 4. Géneros de hongos alteradores hallados en tubérculos.	4
Tabla 5. Criterios microbiológicos para el boniato en crudo y como producto de mínimo procesado.	5
Tabla 6. Factores que afectan a los tratamientos desinfectantes.	7
Tabla 7. Efectos de la aplicación de diferentes tratamientos desinfectantes químicos en la reducción microbiana de vegetales.	8
Tabla 8. Ventajas y desventajas de los tratamientos químicos propuestos para la desinfección de vegetales mínimamente procesados.	10
Tabla 9. Tratamientos físicos empleados para la desinfección de vegetales mínimamente procesados.	13
Tabla 10. Efectos de la combinación de tratamientos físicos sobre la reducción microbiana en alimentos	15
Tabla 11. Efectos producidos por los ultrasonidos de alta potencia en la inactivación microbiana. ..	16
Tabla 12. Efectos de los ultrasonidos en las reducciones microbianas obtenidas en alimentos.....	18
Tabla 13. Utilización de los ultrasonidos en la industria alimentaria	19
Tabla 14. Condiciones ambientales y de los tratamientos utilizados en los experimentos.	24
Tabla 15. Métodos microbiológicos seguidos en el experimento.	27
Tabla 16. Población microbiana inicial en el boniato fresco cortado sin tratamiento.....	29
Tabla 17. Reducción de aerobios mesófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.....	30
Tabla 18. Reducción de anaerobios mesófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.....	32
Tabla 19. Reducción de aerobios psicrófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.	33
Tabla 20. Reducción de mohos y levaduras según tratamiento y tiempo de inmersión.....	34
Tabla 21. Evolución de aerobios mesófilos durante 14 días respecto a la población inicial.....	36
Tabla 22. Evolución de anaerobios mesófilos durante 14 días respecto a la población inicial.....	38
Tabla 23. Evolución de aerobios psicrófilos durante 14 días respecto a la población inicial.	40
Tabla 24. Evolución de mohos y levaduras durante 14 días respecto a la población inicial.....	42

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fenómeno de cavitación mediante ultrasonidos.	17
Figura 2. Diseño experimental.	25
Figura 3. Diseño de la evaluación microbiológica.	26
Figura 4. Reducción microbiológica de los diferentes tratamientos estudiados más efectivos.....	35
Figura 5. Evolución aerobios mesófilos en los días 7, 10 y 14.	37
Figura 6. Evolución anaerobios mesófilos en los días 7, 10 y 14.	39
Figura 7. Evolución aerobios psicrófilos en los días 7, 10 y 14.....	41
Figura 8. Evolución mohos y levaduras en los días 7, 10 y 14.	42

1. Introducción

1.1. El boniato

El boniato (*Ipomoea batatas*) es un tubérculo conocido vulgarmente como camote, moniato, batata, batata azucarada, batata o patata de Málaga, patata dulce y papa dulce. Este tubérculo nace de una planta de consistencia herbácea y porte rastroso cultivada mayoritariamente en Asia. Es un alimento consumido especialmente en Asia y en Sudamérica por su bajo coste económico (FAO., 2013). Actualmente existen unas trece variedades que se clasifican mayoritariamente de acuerdo con el color de su pulpa rojiza, amarilla o blanca (Rodríguez et al., 1984).

Los boniatos tienen una baja tasa de producción de etileno y también una baja sensibilidad a él. Una alta exposición a etileno afecta en el aumento de la respiración y en el metabolismo de fenoles, así como degradando el sabor y el color (Cantwell., 2013). El boniato debe llegar al consumidor con sus características de frescura, por lo tanto la conservación post-cosecha durante su distribución y comercialización debe realizarse con las condiciones de almacenamientos adecuadas (tabla1).

Tabla 1. Condiciones recomendadas para el almacenamiento de boniato.

Temperatura de almacenamiento			Humedad relativa			Temperatura congelación		Vida de almacenamiento		
°C			%			°C		Meses		
5	-	10	85	-	95	<	-1,3	4	-	6

Fuente: Adaptado de Cantwell, 2013 y Fundación Agustina Lerena (*Consultores en Producción, Comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca*), 2000.

La composición nutricional puede variar dependiendo principalmente de la variedad, las condiciones de cultivo y del tratamiento post-cosecha al que se halla sometido el tubérculo. En la composición nutricional del boniato crudo sin procesar (tabla 2), se puede observar que el componente mayoritario es el agua, seguido de los hidratos de carbono, donde el componente mayoritario es el almidón siendo este el nutriente que aporta más energía. Además, aporta un alto contenido en minerales, siendo principalmente, una fuente importante de potasio y vitaminas especialmente del grupo B y C.

Tabla 2. Composición nutricional del boniato fresco.

Composición nutricional en 100g de boniato crudo sin procesar			
Nutrientes	Unidades	Mínimo	Máximo
Valor energético	kcal	86	101
Agua	g	50	81
Proteínas	g	1,2	2,4
Lípidos totales	g	0,5	6,4
Hidratos de carbono	g	16,5	21,5
Almidón	%	30	85
Fibra	g	2,5	3,1
Azúcares totales	g	0,5	7,5
Minerales			
Calcio, Ca	mg	22	34
Hierro, Fe	mg	0	1
Magnesio, Mg	mg	13	25
Fosforo, P	mg	47	64
Potasio, K	mg	320	337
Sodio, Na	mg	19	55
Vitaminas			
Vitamina C, total ácido ascórbico	mg	2,4	25
Vitamina B-1, Tiamina	mg	0,08	0,1
Vitamina B-2, Riboflavina	mg	0,06	0,14
Vitamina B-3, Niacina	mg	0,56	1,2
Vitamina B-6, Piridoxina	mg	0,21	0,22
Vitamina A, Retinol	µg	667	709
Vitamina E, Alfa-tocoferol	mg	0,3	4

Fuente: Adaptado a partir de datos obtenidos de USDA, 2014, FAO, 2014 y MAGRAMA, 2014, Agroads, 2014.

1.1.1. Características microbiológicas

La actividad microbiológica es una de las principales causas del deterioro organoléptico (olor, color, sabor y textura), superficie viscosa y pudrición blanda. Es por ello que los departamentos de control de calidad en la industria del mínimo procesado utilizan la evaluación microbiológica como indicador de la falta de la calidad e higiene (Barth et al., 2009).

El boniato aun estando protegido por una envoltura de tejido acorchado, con tegumentos y sustancias como el ácido ascórbico, es susceptible al crecimiento de bacterias, mohos y levaduras por su alto contenido en sustancias nutritivas y agua. La superficie del boniato, al estar en contacto con la tierra, hace que su flora microbiana pueda llegar a niveles superiores a 10^6 UFC·g⁻¹ (unidades formadoras de colonias por gramo de muestra), donde se pueden hallar mayoritariamente bacterias esporuladas, coryneformes, coliformes y enterococos así como mohos y levaduras. La presencia de *Escherichia coli* estaría relacionada con el uso de aguas contaminadas para el riego (Pascual et al., 2000). Los

tejidos internos del boniato son ricos en nutrientes, tiene un pH cercano a la neutralidad y su estructura se compone principalmente de los siguientes polímeros: celulosa, polisacáridos, hemicelulosa y pectina. Estos polímeros son degradados por microorganismos mediante enzimas líticas que liberan el agua y otros constituyentes intracelulares del tubérculo. El efecto de los hongos se debe a la producción en abundancia de pectinasas y hemicelulasas extracelulares (Barth et al., 2009).

El desarrollo microbiano de un producto mínimamente procesado está influido directamente por la microbiota proveniente de la materia prima cruda recolectada y de las condiciones de procesado. Pasados unos días desde la preparación del producto podemos tener presencia de *Clostridium* en el envase ya que al reducirse el oxígeno y contener una fuente importante de almidón, aumentan los compuestos amoniacales (NH_4) así como los microorganismos psicrófilos debido a su almacenamiento en refrigeración (McConnell et al., 2005 en Oner et al., 2013; Erturk et al., 2006). En la tabla 3 se pueden encontrar los géneros bacterianos alteradores que se han hallado en tubérculos y que por consiguiente se pueden encontrar a lo largo de la vida útil del boniato.

Tabla 3. Géneros de bacterias alteradoras halladas en tubérculos.

Genero	Metabolismo según cepa	Margen de temperatura de crecimiento optimo según cepa	Pared celular Gram	Acción	Formación esporas	Alteración
<i>Pseudomonas</i>	Aeróbico estricto	Psicrófilos	Negativo	Pudrición	No	Marchitez bacteriana
<i>Streptomyces</i>	Aeróbico estricto	Mesófilos / Termófilos	Positivo	Pudrición	Si	Sarna común
<i>Erwinia</i>	Anaeróbico Facultativo	Mesófilos	Negativo	Fermentador de polisacáridos	No	Pudrición blanda y Pierna negra
<i>Bacillus</i>	Aeróbico estricto / Anaeróbico Facultativo	Psicrotrofos / Mesófilos	Positivo	Pudrición	Si	Pudrición
<i>Clostridium</i>	Anaeróbico	Psicrotrofos / Mesófilos	Positivo	Fermentador de lactosa	Si	Pudrición

Fuente: Adapto de Barth et al., 2009 y Clark et al., 1988.

La flora microbiológica y los tipos de microorganismos alteradores nos dan una idea de la salubridad del alimento, así como de la efectividad de las medidas realizadas para controlar o eliminar estos microorganismos. Un alto recuento de microorganismos aerobios mesófilos, superior a 10^6 UFC·g⁻¹, indican que las materias primas estaban contaminadas, que el proceso de desinfección y/o que las condiciones del almacenaje (humedad y temperatura) no fueron las adecuadas para el tipo de producto y un alto recuento de anaerobios nos informa de las bacterias en descomposición capaces de fermentar y dar sabores desagradables y patógenos. La contaminación fúngica (tabla 4) se

caracteriza por la capacidad de deteriorar el alimento (afectando a la composición nutricional, características organolépticas y a la conservación) y por la producción de micotoxinas que pueden provocar intoxicación o alergia a personas y animales (Pascual et al., 2000 y Beltran et al., 2005).

Tabla 4. Géneros de hongos alteradores hallados en tubérculos.

Género	Fitopatología
<i>Geotrichum</i>	Podredumbre
<i>Botrytis</i>	Podredumbre
<i>Sclerotium</i>	Podredumbre carbonosa
<i>Fusarium</i>	Podredumbre negra
<i>Alternaria</i>	Podredumbre
<i>Colletotrichum</i>	Podredumbre
<i>Rhizopus</i>	Podredumbre blanda
<i>Phytophthora</i>	Tizón de la batata
<i>Pythium</i>	Moteado necrótico
<i>Phomopsis batatatis</i>	Podredumbre seca
<i>Plenodomus destruens</i>	Peste negra
<i>Ceratocystis fimbriaia</i>	Podredumbre negra
<i>Monilochaetes infuscans</i>	Sarna

Fuente: Adaptado Barth et al., 2009, Clark et al., 1988 y Monteiro., 2014.

Los criterios microbiológicos que aplica la legislación española para productos mínimamente procesados (R.D. 3484/2000 que establece las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas y el Reglamento (CE) N°2073/2005 modificado por el Reglamento 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007 que establece los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios), los resultados de Pascual et al. (2000) para verduras y hortalizas crudas y los datos de la fundación Agustina Lerena (Consultores en Producción, Comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca del 2000) para el alimento crudo pero que será cocido para su consumo, se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Criterios microbiológicos para el boniato en crudo y como producto de mínimo procesado.

Categoría del alimento	Microorganismo		Fase en la que se aplica el criterio	Plan de muestreo		Límites		Referencia
				n	C	m	M	
Verduras y hortalizas crudas	Aerobios mesófilos		Post cosecha	-	-	10 ²	10 ⁵	Pascual et al., 2000
	Coliformes			-	-	10 ²	10 ⁴	
	<i>Escherichia coli</i>			-	-	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>			-	-	Ausencia / 25g		
	Mohos/levaduras			-	-	10	10 ⁴	
Frutas y hortalizas troceadas (listas para el consumo)	Patógenos	<i>Listeria monocytogenes</i>	Elaboración	5	0	Ausencia / 25g		Reglamento CE 2073/2005 modificado por el Reglamento 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007
			Caducidad	5	0	10 ²		
	Testigos de falta de higiene	<i>Salmonella</i>	Elaboración	5	0	Ausencia / 25g		
			Caducidad	5	0	Ausencia / 25g		
		<i>Escherichia coli</i>	Elaboración	5	2	10 ²	10 ³	
			Caducidad	5	2	10 ²	10 ³	
Grupo D: comidas preparadas envasadas, a base de vegetales crudos	Aerobios mesófilos		Elaboración	5	2	10 ⁵	10 ⁶	R.D. 3484/2000
			Caducidad	5	2	10 ⁶	10 ⁷	
	Patógenos	<i>Salmonella</i>	Elaboración	5	0	Ausencia / 25g		
			Caducidad	5	0	Ausencia / 25g		
	Testigos de falta de higiene	<i>Listeria monocytogenes</i>	Elaboración	5	2	10	10 ²	
			Caducidad	5	2	10	10 ²	
		<i>Escherichia coli</i>	Elaboración	5	2	10	10 ²	
			Caducidad	5	2	10	10 ²	
Alimento crudo pero que será cocido para su consumo	Recuento de bacterias Aerobias Mesófilas (UFC·g ⁻¹)		Caducidad	-	-	3 x 10 ⁶		Consultores en Producción, Comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca, 2000
	Recuento de bacterias coniformes totales (UFC·g ⁻¹)			-	-	1,5 x 10 ⁴		
	Presencia de <i>Escherichia coli</i>			-	-	Ausencia/0,1g		
	Recuento de anaerobios sulfito reductores (UFC·g ⁻¹)			-	-	2 x 10 ²		
	Recuento de mohos y levaduras (UFC·g ⁻¹)			-	-	5 x 10 ³		
	<i>Salmonella</i>			-	-	Ausencia / 25g		

n: número de unidades de que se compone la muestra; *c*: número de unidades de la muestra donde el número de bacterias se podrá situar entre *m* y *M*; *M*: valor límite del número de bacteria ($\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$)

Fuente: Adaptado de R. Pascual et al., 2000; R.D. 3484/2000; Reglamento CE 2073/2005; Fundación Agustina Lerena (Consultores en Producción, Comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca), 2000.

1.2. La vida útil en el procesado mínimo de vegetales

La vida útil (es decir, el tiempo que corresponde a una pérdida de calidad de un alimento procesado y que este manifiesta condiciones apropiadas de seguridad alimentaria con la evaluación microbiológica y la calidad sensorial) de vegetales mínimamente procesados varía según el alimento (Barth et al., 2009). El boniato crudo sin procesar presenta una vida útil en condiciones idóneas, descritas en la tabla 1, de entre cuatro y seis meses. No obstante, la vida útil se reducirá al someterlo a procesos de pelado, cortado y desinfectado con el fin de realizar un producto con un mínimo procesado. Los factores que más influyen sobre los niveles de contaminación microbiana y por lo tanto sobre la vida útil, es la rapidez en que se realiza el procesado, el lavado, la temperatura de la sala de procesado y la eficacia del tratamiento desinfectante (concentración cloro, temperatura del agua y pH). Los cambios de calidad, como la pérdida de firmeza, malos olores y viscosidad se producen cuando en alimentos mínimamente procesados se llegan a recuentos superiores a 10^8 UFC·g⁻¹ (Erturk et al., 2006). Aunque mayoritariamente los productos mínimamente procesados se conservan en atmósfera modificada, en el caso de tubérculos se ha comprobado que la atmósfera modificada no afecta a la vida útil del producto ya que estos tienen una producción baja de etileno (Cantwell, 2013).

1.3. Tratamientos desinfectantes en el procesado mínimo

Un producto mínimamente procesado se debe de haber sometido a un tratamiento desinfectante con el objetivo de evitar el riesgo microbiológico sin alterar las propiedades químicas y físicas. Antes de evaluar la eficacia de los tratamientos se deben conocer las propiedades fisicoquímicas del agua de lavado y los tipos de productos que se utilizaran durante el proceso (tabla 6).

Tabla 6. Factores que afectan a los tratamientos desinfectantes.

Factores que afectan a los tratamientos desinfectantes de carga microbiana	
Calidad del agua	<ul style="list-style-type: none"> ▪ pH ▪ Temperatura ▪ Turbidez ▪ Materia orgánica
Desinfectante químico	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Concentración ▪ Tiempo de contacto
Tratamiento de descontaminación	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Método de aplicación (inmersión, pulverización con o sin agitado, frotado) ▪ Agua/rendimiento ▪ Lotes individuales o múltiples ▪ Lavado después del tratamiento ▪ Múltiples lavados
Microorganismo a eliminar	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elección de la cepa microbiana ▪ Cepa única o varias cepas ▪ Estados fisiológicos de las células bacterianas ▪ Tamaño de la población
Producto	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Características de las superficies del producto (grietas, tendencia hidrófoba y la textura) ▪ Relación peso y superficie

Fuente: Adaptado de Gil et al., 2009.

En las frutas, verduras y productos mínimamente procesados, la desinfección con cloro (hipoclorito) a concentraciones entre 50 y 200 ppm (mg Cl/L) con tiempos de inmersión inferiores a 5 minutos son los más utilizados por su alta eficacia como reductor de carga microbiana (Artes y Allende, 2005; Rico et al., 2007 en Ramos et al., 2013; IFPA, 1996; Simons & Sanguansri, 1997 en Erturk et al., 2006). Aproximadamente el 76% de la industria del mínimo procesado utiliza hipoclorito como agente desinfectante y en la actualidad se utilizan numerosos derivados clorados como cloro gas, dióxido de cloro y ácido hipocloroso. El cloro y sus derivados son sustancias que actúan por mecanismos de oxidación, rompiendo así la pared celular de los microorganismos y finalmente destruyendo la célula. Estos pueden reaccionar en el agua con la materia orgánica, producir vapores de cloro y formar subproductos como trihalometanos, ácido haloacético, halocetonas y cloropicrina. Aunque no está clara su presencia en los productos de mínimo procesado, en los últimos diez años, ha aumentado la sensibilidad por estos subproductos, sobre todo en países como Alemania o Suiza, prohibiendo su uso en estos productos (Gil et al., 2009, Osorio et al., 2010, Parish et al, 2003, Rico et al., 2007 en Ramos et al., 2013). En la tabla 7 se presenta la eficacia de diferentes tratamientos químicos desinfectantes aplicados en vegetales. Según Erturk et al. (2006) el efecto reductor de la

carga microbiana en boniato tratado con el desinfectante hipoclorito de sodio estaba relacionado con la concentración del mismo.

Tabla 7. Efectos de la aplicación de diferentes tratamientos desinfectantes químicos en la reducción microbiana de vegetales.

Alimento	Grupo de Microorganismo	Condiciones de tratamiento	Reducción microbiana (log UFC·g ⁻¹)	Referencia
Patata	Anaerobios Mesófilos	80ppm - Hipoclorito de sodio 3 minutos	0,7	Beltran et al., 2005
		2000ppm - Sulfito de sodio 3 minutos	0,6	
	Aerobios Mesófilos y Psicrófilos	Ozono + acido peroxiacético 3 minutos - Día 5	1,14	
Boniato	Aerobios Mesófilos	50ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,74	Erturk et al., 2006
		200ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	1,73	
	Aerobios psicrófilos	50ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,37	
		200ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,98	
	Mohos y levaduras	50ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,39	
		200ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,63	
	Aerobios Mesófilos	500ppm - Clorito de sodio acidificado 5 minutos	1,06	Sun et al., 2012
		100ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,55	
Rábanos	Aerobios Mesófilos	500ppm - Clorito de sodio acidificado 5 minutos	1,21	
		100ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,76	
	Coliformes Totales	100ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,79	
Calabacín	Coliformes Totales	100ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	0,79	
Zanahoria	Aerobio Mesófilos	100ppm - Hipoclorito de sodio 5 minutos	2,29	
		500ppm - Clorito de sodio acidificado 5 minutos	2,76	

Varios agentes desinfectantes pueden ser utilizados para el tratamiento de vegetales con el objetivo de reducir el riesgo de la contaminación microbiana, ayudar en la prevención de enfermedades en la post-cosecha y las transmitidas por el propio alimento. Un breve resumen de las ventajas e inconvenientes de los tratamientos químicos propuestos para vegetales mínimamente procesados se encuentran en la tabla 8. El dióxido de cloro (ClO₂) como alternativa al cloro en las frutas y los

vegetales crudos puede ser utilizado en concentraciones de hasta 3 ppm y es 2,5 veces más oxidante que el cloro. Además, el dióxido de cloro no participa en las reacciones de cloración que dan lugar a subproductos nocivos (Keskinen et al., 2009 en Ramos et al., 2013). El clorito de sodio acidificado es un compuesto que se utiliza en el vegetal crudo en concentraciones del rango entre 500 a 1200 ppm. Este muestra un efecto antimicrobiano contra *Escherichia coli* cepa O157:H7 y *Salmonella* en melones y espárragos. Sin embargo, el número de estudios es aún limitado, y se precisa de más información sobre su utilización como producto de desinfección (Artes et al., 2009; Beuchat., 1998; Parish et al., 2003 en Ramos et al., 2013). El ozono es un agente antimicrobiano fuerte con alta reactividad y penetrabilidad. En medio acuoso las concentraciones de ozono van desde 0,03 a 20 ppm. El agua ozonizada se ha aplicado comúnmente para la desinfección de verduras mínimamente procesadas y se han logrado algunas reducciones microbianas y alargar la vida útil (Alexandre et al., 2011; Alexandre et al., 2011; Milleret et al., 2013 en Ramos et al., 2013). Este tratamiento ha sido efectivo contra los microorganismos patógenos y de deterioro, asegurando al mismo tiempo una calidad aceptable del producto (Al-Haddad et al., 2005; Baur et al., 2005; Beltrán et al., 2005; Hua et al., 2007; Ölmez et al., 2009; Parish et al., 2003; Pascual et al., 2007 en Ramos et al., 2013). Varios estudios mostraron que el ozono gaseoso es más efectivo que en soluciones acuosas (Klockow et al., 2010 en Ramos et al., 2013). Los ácidos orgánicos como el ácido láctico, el cítrico, el acético o el tartárico han sido descritos como fuertes agentes antimicrobianos debido a la reducción del pH, la permeabilidad de la membrana y la acumulación de aniones (Parish et al., 2003 en Ramos et al., 2013). El ácido peroxiacético es la combinación de ácido peracético ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), por lo general se comercializa como un líquido. Es un oxidante fuerte y se utiliza para lavar las frutas y vegetales en concentraciones de hasta 80 ppm. El ácido peroxiacético es eficaz en la inactivación de microorganismos patógenos en suspensión en bajas concentraciones (Ramos et al., 2013). El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un compuesto que posee una actividad bacteriostática y bactericida debido a su fuerte poder oxidante y a la generación de radicales de hidroxilo. Se utiliza como agente antimicrobiano o de blanqueo en concentraciones inferiores a 80 ppm (Ölmez et al., 2007; Alexandre et al., 2012; Zabik et al., 2001 en Ramos et al., 2013).

Tabla 8. Ventajas y desventajas de los tratamientos químicos propuestos para la desinfección de vegetales mínimamente procesados.

Tratamientos de desinfección	Ventajas	Inconvenientes
Cloro (Hipoclorito)	<ul style="list-style-type: none"> -Bajo coste -Fácilmente disponible 	<ul style="list-style-type: none"> -Posible formación de residuos peligrosos en niveles altos -Reacciona con la materia orgánica -La eficacia se ve afectada por la presencia de materia orgánica -Corrosivo -Eficacia depende del pH
Ozono	<ul style="list-style-type: none"> -Alta actividad antimicrobiana -Corto tiempo de contacto -Sustancia generalmente conocida como segura -No hay problema de residuos -No hay necesidad de almacenar sustancias peligrosas -Bajo coste de funcionamiento 	<ul style="list-style-type: none"> -Requiere la generación in situ -Tóxico por inhalación -Requiere la vigilancia en interiores -Corrosivo por encima de 4 ppm -Mayor coste de inversión inicial
Dióxido de cloro	<ul style="list-style-type: none"> -Mayor eficacia antimicrobiana que el cloro a pH neutro -Menor eficacia dependiente del pH que el de cloro -Menor problema de residuos tóxicos potencialmente peligrosos que el cloro -Menos corrosivo que el cloro y el ozono 	<ul style="list-style-type: none"> -No es eficiente en los niveles permitidos para los productos frescos -Requiere la generación in situ -Se requiere aclarado con agua al final después del tratamiento -Formación de subproductos clorito y clorato -Requiere la vigilancia en interiores
Ácidos orgánicos	<ul style="list-style-type: none"> -Fácil de utilizar -No son tóxicos -Permitido para productos orgánicos 	<ul style="list-style-type: none"> -Largo tiempo de contacto, no es relevante para la industria -Interfiere en la calidad sensorial -Eficacia antimicrobiana relativamente menor
Ácido peroxiacético	<ul style="list-style-type: none"> -Eficacia no afecta a la materia orgánica de las aguas -Eficacia afectada por los cambios de temperatura -No hay problema de residuos -No corrosivo a niveles permitidos (<80 ppm) 	<ul style="list-style-type: none"> -Eficacia antimicrobiana baja en los niveles permitidos
Peróxido de hidrogeno	<ul style="list-style-type: none"> -No hay problema de residuos -Fácil de utilizar -Bajo coste 	<ul style="list-style-type: none"> -Baja eficacia antimicrobiana -Largo tiempo de contacto -Impacto fitotóxico, negativo sobre la calidad general -Requiere la eliminación de H₂O₂ residual después de procesar

Fuente: Adaptado de Ölmez et al., 2009 y Ramos et al., 2013.

1.3.1. Tratamientos físicos

Los tratamientos físicos son altamente efectivos en la inactivación de células vegetativas como bacterias, mohos y levaduras. Sin embargo, las enzimas y las esporas de bacterias y hongos que se relacionan con la calidad de los alimentos, son muy resistentes a estos tratamientos en desarrollo. Las aplicaciones a gran escala tienen sus limitaciones, lo que hace difícil su aplicación en la industria del mínimo procesado. En la actualidad, los tratamientos físicos más utilizados para vegetales mínimamente procesados son el envasado en atmósfera modificada y envases activos pero hay otros que también se utilizan y que están todavía en estudio como la irradiación, la luz ultravioleta, la luz pulsada, la alta presión hidrostática, el ultrasonido y el *cold* plasma. La eficacia y sus correspondientes ventajas y desventajas se muestran en la tabla 9 (Ramos et al., 2013). El envasado en atmósfera modificada (MAP) implica la modificación de la composición de la atmósfera interna del envase mediante la reducción de la cantidad de oxígeno (O_2) y su sustitución por el dióxido de carbono (CO_2) y/o nitrógeno (N_2). Este proceso tiene el objetivo de alargar la vida durante la post-cosecha por la disminución de la tasa de respiración y la producción de etileno, minimizando así la actividad metabólica, retardando el pardeamiento enzimático y la degradación organoléptica (Cui et al., 2009 en Ramos et al., 2013). El inconveniente de este método está relacionado con los niveles de dióxido de carbono generados dentro de los envases que no sólo pueden inhibir el deterioro aeróbico de los microorganismos, sino que también puede permitir y fomentar el crecimiento de microorganismos patógenos (Rodríguez et al., 2009; Rosa et al., 2007 en Ramos et al., 2013). El envasado activo consta de la incorporación de ciertos agentes en el sistema de envasado para mejorar la calidad y la inocuidad de los alimentos y, por tanto, alargar su vida útil (Dainelli et al., 2008; Kerry et al., 2006 en Ramos et al., 2013). La naturaleza de los agentes activos que se pueden añadir es muy diverso y pueden ser ácidos orgánicos, enzimas, bacteriocinas, fungicidas, extractos naturales, iones, etanol, etc, y el material de los envases puede ser de papel, plástico, metal o combinaciones de estos materiales (Dainelli et al., 2008; Restuccia et al., 2010 en Ramos et al., 2013). La irradiación en los que se incluyen los rayos gamma, rayos X y electrones, son también nombrados como radiaciones ionizantes. Esto es debido a que son capaces de producir iones, cargados electrónicamente de átomos o moléculas. El objetivo principal de la ionización es producir radicales libres en el agua, que reaccionan, destruyen o desactivan componentes bacterianos (Allende et al., 2006; Rico et al., 2007; Soliva et al., 2003 en Ramos et al., 2013). La aplicación de este tratamiento en frutas y verduras es en dosis bajas para así retrasar la maduración de los productos y ser muy eficaz en la reducción bacteriana (Lu et al., 2005; Prakash et al., 2000 en Ramos et al., 2013). Este tratamiento ha sido aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) para su uso en las frutas y las verduras en un nivel máximo de 1,0 kGy (*kilogray*) (Parish et al., 2003 en Ramos et

al., 2013). La radiación ultravioleta se clasifica de acuerdo a la longitud de onda: las que oscilan entre 315 y 400 nm se conocen como radiación del ultravioleta cercano (UV-A), las que oscilan entre 280 y 315 nm son la radiación ultravioleta de gama media (UV-B) y las que su oscilación es entre 100 y 280 nm son llamadas la radiación del ultravioleta lejano (UV-C) (Prakash et al., 2000 en Ramos et al., 2013). La radiación del ultravioleta lejano es el tratamiento más común aplicado a las frutas y verduras frescas, ya que actúa directa o indirectamente como un agente antimicrobiano. Este puede causar daño directo en el ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano o inducir a mecanismos de resistencia contra los patógenos (Ben-Yehoshua et al., 2005 en Ramos et al., 2013). El tratamiento de luz pulsada es un tratamiento rápido y eficaz en la inactivación microbiana en alimentos sólidos y líquidos, y consiste en aplicar pulsos de luz del ultravioleta lejano de alta frecuencia en un tiempo corto y en el rango de longitud de onda de 100-1100 nm. Su mecanismo de acción ha sido dada en términos de cambios estructurales del ADN microbiano, comparable por el efecto causado por fuentes ultravioletas (Pataro et al., 2011; Vicente et al., 2005 en Ramos et al., 2013). El tratamiento de alta presión se basa en someter al alimento a presiones elevadas en el intervalo de 100 a 1000 MPa para lograr inactivaciones microbianas y enzimáticas, sin degradar el sabor y los nutrientes asociados al tratamiento térmico tradicional. Este tratamiento puede aumentar la estabilidad química o microbiana y hacer cambios de textura deseables en los productos alimenticios. Estos logros dependerán de la presión, el tiempo en que se aplica el tratamiento y los tipos de enzimas y/o microorganismos (Guerrero et al., 2005 en Ramos et al., 2013). El *cold* plasma es una tecnología emergente antimicrobiana que consiste en el uso de el plasma que se compone de moléculas de gas, que han sido disociadas por una entrada de energía. Está constituido por los fotones, los electrones positivos y los iones negativos, los átomos, los radicales libres y las moléculas excitadas o no excitadas que, en combinación, tienen la capacidad de inactivar microorganismos (Fernández et al., 2012 en Ramos et al., 2013). Este método de desinfección utiliza la electricidad y un gas portador, como aire, oxígeno, nitrógeno o helio (Niemir., 2012 en Ramos et al., 2013).

Tabla 9. Tratamientos físicos empleados para la desinfección de vegetales mínimamente procesados.

Tratamiento	Eficacia	Ventajas	Desventajas
Irradiación	-Alta eficiencia para la eliminación de bacterias patógenas y parásitos de la superficie de frutas y verduras	-Se realiza a temperatura ambiente -Se puede aplicar después del envasado -Retrasa la maduración y senescencia de los frutos climatéricos -Prolonga la vida útil de los productos -Bajo coste energético de energía	-Desaceptación de la irradiación por los consumidores -La calidad del producto puede verse afectada a dosis muy elevadas -Alteración de la textura del producto -Alta inversión inicial
Luz ultravioleta (UV)	-Eficaz en la reducción del crecimiento microbiano -Germicida en el intervalo UV-C	-Ausencia de toxicidad residual -Equipo de bajo coste económico y fácil de usar -Puede reducir el deterioro de los productos -Induce la síntesis de compuestos beneficiosos para la salud como antocianinas y fenilpropanoides.	-Necesario un pre-tratamiento -Dificultad de determinar la dosis idónea -Aumenta la respiración e induce al proceso de lignificación -Aplicación limitada en alimentos sólidos y superficies opacas -Puede causar sabores desagradables y cambios de color
Luz pulsada (PL)	-Retarda deterioro y el crecimiento de microorganismos patógenos	-Rápida y eficaz en la inactivación microbiana en alimentos sólidos y líquidos -Coste del equipo medio -Bajo coste energético	-La eficacia disminuye a altos niveles de contaminación -Algunos microorganismos pueden generar resistencia
Alta presión hidrostática (HPP)	-Eficaz para inactivar la mayor parte de microorganismos patógenos y de deterioro a presiones superiores a 200MPa	-Inactivación microbiana y enzimática -No presenta degradación en el sabor ni en los nutrientes -No hay pruebas de toxicidad -Positivo para el consumidor	-Los alimentos deben contener aproximadamente 40% de agua libre para el efecto antimicrobiano. -Afecta a la integridad del alimento -Alto coste del equipo
Ultrasonido (US)	-Eficaz contra bacterias patógenas comunes -Eficaz contra células vegetativas, esporas y enzimas	-Mejora la penetración de soluciones -Aumenta la tasa de transferencia de calor -Reduce los tiempos de proceso y temperatura	-Mayor eficacia si es combinado con otro tratamiento -Difícil aplicación a escala industrial -Pueden aparecer cambios estructurales y de textura -La penetración de la onda depende del sólido y del aire que contenga
Cold Plasma	Inactivación de <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> , <i>S. Aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> 1,5–3,7 log UFC·g ⁻¹	-Alta eficiencia -Menor impacto en la matriz del producto -No deja residuos -Se puede utilizar en superficies de tejidos vegetales -Se puede incluir en el proceso de envasado	-Escasa información sobre el mecanismo de inactivación -Pueden producirse cambios físico-químicos en el producto -Inactivación afectada por el tipo y concentración del microorganismo, mezcla de gas y estado fisiológico de las células -Escasa información de la estabilidad del plasma a escala industrial

Fuente: Adaptado de Ramos et al., 2013.

Con el fin de aumentar el efecto letal y/o prevenir la proliferación de bacterias, mohos y levaduras después del tratamiento físico, se han investigado con la combinación de factores (temperatura, presión, pH, etc). El resultado obtenido de estas combinaciones cuando se aplicaron al tratamiento

físico de forma simultánea o sucesivamente fueron diferentes y se pueden ver en la tabla 10. Diferentes autores han investigado la reducción microbiana combinando ultrasonidos con temperatura y sus afirmaciones fueron que las esporas de las bacterias termoresistentes como *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* y termoduricos como *streptococos*, decrecen cuando los ultrasonidos de 20kHz son combinados sucesivamente con temperatura, pero si la aplicación es simultanea el efecto es mucho mayor. La combinación simultanea de ultrasonido con presión también consiguió una mayor inactivación microbiana (Barbosa et al., 2000).

Tabla 10. Efectos de la combinación de tratamientos físicos sobre la reducción microbiana en alimentos

Factor	Alta presión hidrostática	Campo eléctrico pulsado	Ultrasonido	Irradiación
Temperaturas moderadas	Simultáneamente			
	Aumenta la letalidad	Aumenta la letalidad	Efecto añadido sobre células vegetativas y esporas bacterianas	Efecto sinérgico
	Sucesivamente			
	Inactivación esporas bacterianas	-	Disminuye la resistencia al calor de las esporas	Aumenta el efecto sinérgico
Bajo pH	Simultáneamente			
	Aumenta la letalidad	Aumenta la letalidad	No efecto	-
	Sucesivamente			
	Inhibición del crecimiento microbiano	Inhibición del crecimiento microbiano	No efecto	-
Baja a_w	Simultáneamente			
	Efecto antagonista	Efecto antagonista	Efecto antagonista	Efecto antagonista
Producto antimicrobiano	Simultáneamente			
	Aumenta la letalidad	Aumenta la letalidad	-	-
	Sucesivamente			
	-	Aumenta la letalidad	-	-
Baja temperatura	Simultáneamente			
	Aumenta la letalidad	-	-	-
	Sucesivamente			
	Inhibición del crecimiento microbiano	Inhibición del crecimiento microbiano	-	Inhibición del crecimiento microbiano
Alta presión hidrostática	Simultáneamente			
	-	Efecto antagonista	-	-
	Sucesivamente			
	-	Aumenta la letalidad	-	-
Irradiación	Simultáneamente			
	Aumenta el efecto	-	-	-
	Sucesivamente			
	Reducción de las esporas resistentes a la alta presión hidrostática y a la radiación	-	-	-

Fuente: Adaptado de Barbosa et al., 2000.

1.3.1.1. Los ultrasonidos y su efecto sobre las células vivas

Aunque en la actualidad los tratamientos que se utilizan para reducir la carga microbiana son mayoritariamente a base de derivados clorados, tratamientos físicos como los ultrasonidos ya tienen una amplia variedad de aplicaciones en el procesamiento y en la evaluación de productos (Awad et al. 2012, Piyasena et al. 2003). Cuando se habla de ultrasonido se refiere a ondas de presión con frecuencia entre 20kHz (kilohercio) y 10MHz (megahercio) aplicadas sobre un medio líquido. Según las aplicaciones se dividen en dos grupos: los que modifican al alimento (ultrasonido de alta potencia o ultrasonido de potencia) y los que dan información de cómo se está llevando el proceso (ultrasonido de baja potencia). Los ultrasonidos de alta potencia utilizan frecuencias del rango entre 20 y 100kHz. (Piyasena et al., 2003, Seymour et al., 2002). La efectividad de este tratamiento se ve afectada por los factores intrínsecos relacionados con el mismo equipo de ultrasonidos (frecuencia, longitud de onda, la amplitud de la onda, la energía ultrasónica y la consecuente intensidad) (Pingret et al., 2013). Para aumentar su efectividad se pueden combinar simultáneamente con presión y/o temperatura (Barbosa et al., 2000, Awad et al., 2012, Gao et al., 2014). Los mecanismos de acción producidos por los ultrasonidos se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Efectos producidos por los ultrasonidos de alta potencia en la inactivación microbiana.

Efecto	Mecanismo	Aplicación	Referencia
Cavitación	Efecto micro-mecánico de continua formación y ruptura de burbujas microscópicas inducidas por altas temperaturas (5000°C) y presiones (500MPa).	Procesos de desinfección, lisis celulares e inactivación enzimática.	Piyasena et al., 2003
Formación de radicales libres	Sonólisis del agua produce iones (OH^-) y (H^+) y peróxido de hidrogeno.	Inactivación microbiana y enzimática.	O'Donell et al., 2010
Compresión y expansión	Micro corriente acústica.	Inactivación microbiana y enzimática.	O'Donell et al., 2010
Fuerzas de cizalla y eclosión intracelular	Disrupción de las células y disminución del grosor de paredes celulares.	Lisis celular, inactivación enzimática y efecto antimicrobiano.	O'Brien., 2007
Generación de energía calórica y mecánica	Propagación de la onda decrece con la distancia al ser aplicado en el material. Esta energía que es absorbida se traduce en calor.	Inactivación microbiana.	O'Brien., 2007

Durante el proceso de sonificación, las ondas longitudinales son creadas cuando la onda sónica pasa a través del medio líquido y crea alternativamente regiones de cambio de presión (compresión y expansión). En estas regiones se produce la cavitación, que causa un efecto bactericida debido a la formación y a la ruptura de las burbujas de gas microscópicas. Si la onda sonora subministrada no es suficiente para retener la fase de gas en la burbuja se produce una condensación rápida y provoca choques micro-mecánicos que conllevan a un aumento de temperatura y presión, un cambio en los

componentes estructurales y en las funciones celulares hasta el punto de producir la lisis o la muerte celular (figura 1) (Pingret et al., 2013; Awad et al., 2012; Pineda., 2012).

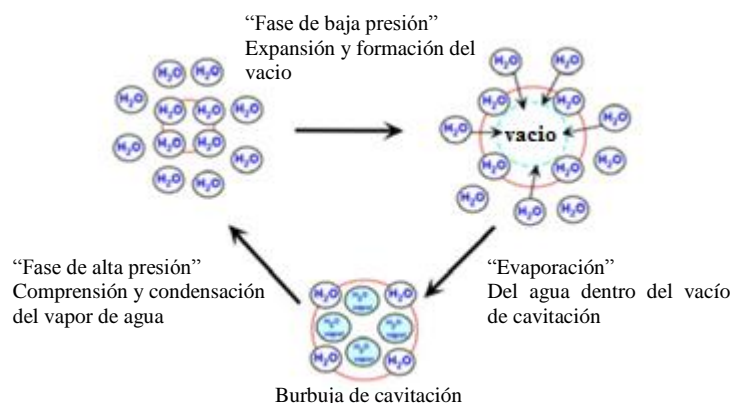


Figura 1. Fenómeno de cavitación mediante ultrasonidos.

Fuente: Adaptado Jung et al., 2010.

La eficacia del tratamiento de ultrasonido depende del tipo de bacterias. Las esporas son relativamente resistentes a los efectos y es por ello que se necesitaran periodos más largos de tratamiento para obtener un producto más seguro o aplicar más presión, temperatura o algún producto que produzca alguna variación de pH. Otros efectos a considerar importantes en la reducción microbiana por ultrasonidos son el colapso de las burbujas que producen incrementos de temperatura (5000 °C) y presión (500 MPa) en puntos localizados y la sonólisis que forma radicales libres muy oxidantes (Pineda., 2012 y Piyasena et al., 2003).

La susceptibilidad al ultrasonido puede variar entre diferentes microorganismos. Las bacterias gram-negativas son más susceptibles a la inactivación que las gram-positivas ya que estas poseen una pared celular mucho más gruesa. También, por lo general, las bacterias más largas o más grandes son más sensibles, posiblemente, por la mayor superficie de contacto (Gao et al., 2014; Pineda., 2012). La tasa de mortalidad es altamente dependiente de la frecuencia de ultrasonido, amplitud de la onda y el volumen de concentración bacteriana. Frecuencias alrededor de 20 kHz son eficientes en la inactivación microbiana, pero las esporas y las bacterias gram-positivas resisten más a esta frecuencia. Además, se ha encontrado variación de efectividad entre diferentes cepas bacterianas. Estudios sobre la letalidad en *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* y *Escherichia coli* en tratamientos que combinaban los ultrasonidos con presión y temperatura, dieron bajas reducciones microbiológicas a presión y temperatura ambiente, pero el efecto se incrementaba a medida que la presión y/o la temperatura aumentaba (Awad et al., 2012). En la tabla 12 se pueden encontrar algunos ejemplos del efecto de los ultrasonidos sobre la reducción microbiana en productos vegetales. Bilek et al. (2013) encontró una gran reducción microbiana de aerobios mesófilos en

trufas, del orden de cuatro unidades logarítmicas, con un tratamiento de ultrasonidos de 35 kHz combinado con etanol al 70% a una temperatura de 4°C y un tiempo de inmersión de 10 minutos. Así como, tuvo una reducción de *Enterobacteriaceae* de 3,6 unidades logarítmicas en la inmersión de 10 minutos de ultrasonidos de 35kHz con etanol (70%) a la temperatura.

Tabla 12. Efectos de los ultrasonidos en las reducciones microbianas obtenidas en alimentos.

Alimento	Tratamiento	Condiciones de tratamiento	Reducción microbiana log UFC·g ⁻¹	
Lechuga	Ultrasonido	280W/L, 20kHz 53 minutos	E. coli O157:H7: 4,4	
Fresa		350W/L, 40kHz 20°C - 10 minutos	AEM: 0,6 MYL: 0,5	
		120W, 35kHz 15°C - 1:25 Proporción	AEM: 0,6 MYL: 1,4	
		Zanahoria Rallada	45kHz 1 minuto	AEM: 1,3 MYL: 0,9
			Ultrasonido + Agua clorada (200ppm cloro libre)	45kHz 1 minuto
Trufas		US + etanol (70%)		35kHz 4°C, 10 minutos

AEM: Aerobios Mesófilos; MYL: Mohos y levaduras

Fuente: Adaptado de Bilek et al., 2013

En la actualidad, los ultrasonidos son investigados en combinación con otras tecnologías en alimentos líquidos como zumos y leche, para intentar alcanzar la letalidad microbiológica de una pasteurización y sin llegar a degradar las características organolépticas. Sin embargo, en la industria alimentaria el uso de ultrasonidos se puede encontrar en diferentes procesos como los mostrados en la tabla 13 (Pineda., 2012).

Tabla 13. Utilización de los ultrasonidos en la industria alimentaria.

Procesos de oxidación	• Desarrollando aromas y sabores
Reacciones enzimáticas	• Previniendo el oscurecimiento de vegetales, inhibición de enzimas evitando así el desarrollo de malos olores y sabores.
Esterilización	• Descontaminando superficies de materiales y alimentos (aplicación más común).
Extracción	• De azúcar, proteínas (soja), hojas para té, etc.
Productos carnicos	• Formación de emulsiones para la preparación de jamones, debido a la acción de romper la miofibrilla de la carne
Cristalización	• Controlando el tamaño de los cristales cuando el alimento es congelado
Secado acústico	• Incrementa la transferencia de calor entre el sólido y el líquido, evita la oxidación y degradación de material.

Fuente: Adaptado Pineda et al., (2012).

Es por ello que los ultrasonidos como tratamiento desinfectante para reducir la carga microbiana es un tratamiento con potencial ya que es un tratamiento respetuoso con el alimento y el medio ambiente.

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es determinar el efecto de los ultrasonidos de alta potencia sobre la reducción microbiana en un producto mínimamente procesado de boniato (*Ipomoea batatas*).

Los objetivos específicos son:

- ❖ Comparar la efectividad de los ultrasonidos sobre la reducción de la microbiota inicial respecto al lavado con agua y la desinfección con solución de hipoclorito de 150 ppm.
- ❖ Determinar el tiempo idóneo (15, 20 y 25 minutos) de inmersión del ultrasonido de alta potencia (42kHz) para obtener una mayor reducción microbiológica.
- ❖ Evaluar el efecto del tratamiento y tiempo de inmersión sobre el crecimiento microbiano en el producto mínimamente procesado a lo largo de 14 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración.

Para ello se estudiará la microbiota inicial (aerobios mesófilos totales, anaerobios mesófilos totales, aerobios psicrófilos totales, hongos y levaduras), su reducción y evolución a lo largo de 14 días de almacenamiento a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3. Materiales y métodos

3.1. Materia prima

Los boniatos frescos (*Ipomoea batatas*) son de la variedad California de categoría primera. Para realizar este estudio se han utilizado dos lotes de boniato comprados en Mercabarna al distribuidor Peluche Castillo Navas, S.L. procedente de los agricultores de Algarrobo, Málaga. El primer lote se utilizó para los experimentos con tiempos de inmersión durante 15 y 20 minutos y el segundo lote para el experimento con tiempo de inmersión de 25 minutos.

La muestra se ha almacenado, hasta su utilización, en condiciones de refrigeración (7 ± 2 °C).

3.2. Equipos

- Ultrasonido 42kHz

Este tratamiento se realizó en un baño de ultrasonidos sin calefacción de la marca SELECTA referencia 209828 a una frecuencia de 42kHz y con una capacidad de nueve litros.

- Envasadora ILPRA

Se ha utilizado una envasadora termoselladora y semi-automática de mesa de modelo EasyBox. La máquina consiste en un sistema patentado que permite el envasado en atmósfera pasiva, movimiento automático del film de sellado, corte recto de film, accionado eléctrico del sellado y corte (sin compresor) y cambio rápido de formato (ILPRA., 2014).

3.3. Material de envasado

El material utilizado para el envasado, fueron barquetas de plástico a base de polipropileno de dimensiones 160 x 130 x 36mm y el film que la sellaba era un film semipermeable (fichas técnicas en anexos 8.1. Film semipermeable y 8.2. Barqueta).

3.4. Diseño experimental

Se realizaron tres experimentos según los tiempos de inmersión 15, 20 y 25 minutos en los tratamientos estudiados: solución de hipoclorito 150 ppm, ultrasonidos 42kHz, y un lavado con agua de red. Dichos experimentos se iniciaron en distintos días, pero en condiciones similares (tabla 14).

Tabla 14. Condiciones ambientales y de los tratamientos utilizados en los experimentos.

Temperatura - Planta piloto	$20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
Temperatura - Agua de red	$20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
pH - Agua de red	$7,01 \pm 0,50$
pH - Solución de hipoclorito 150ppm	$9,00 \pm 0,50$

A continuación, se representa en un diagrama de flujo el proceso realizado durante los tres experimentos en la figura 2.

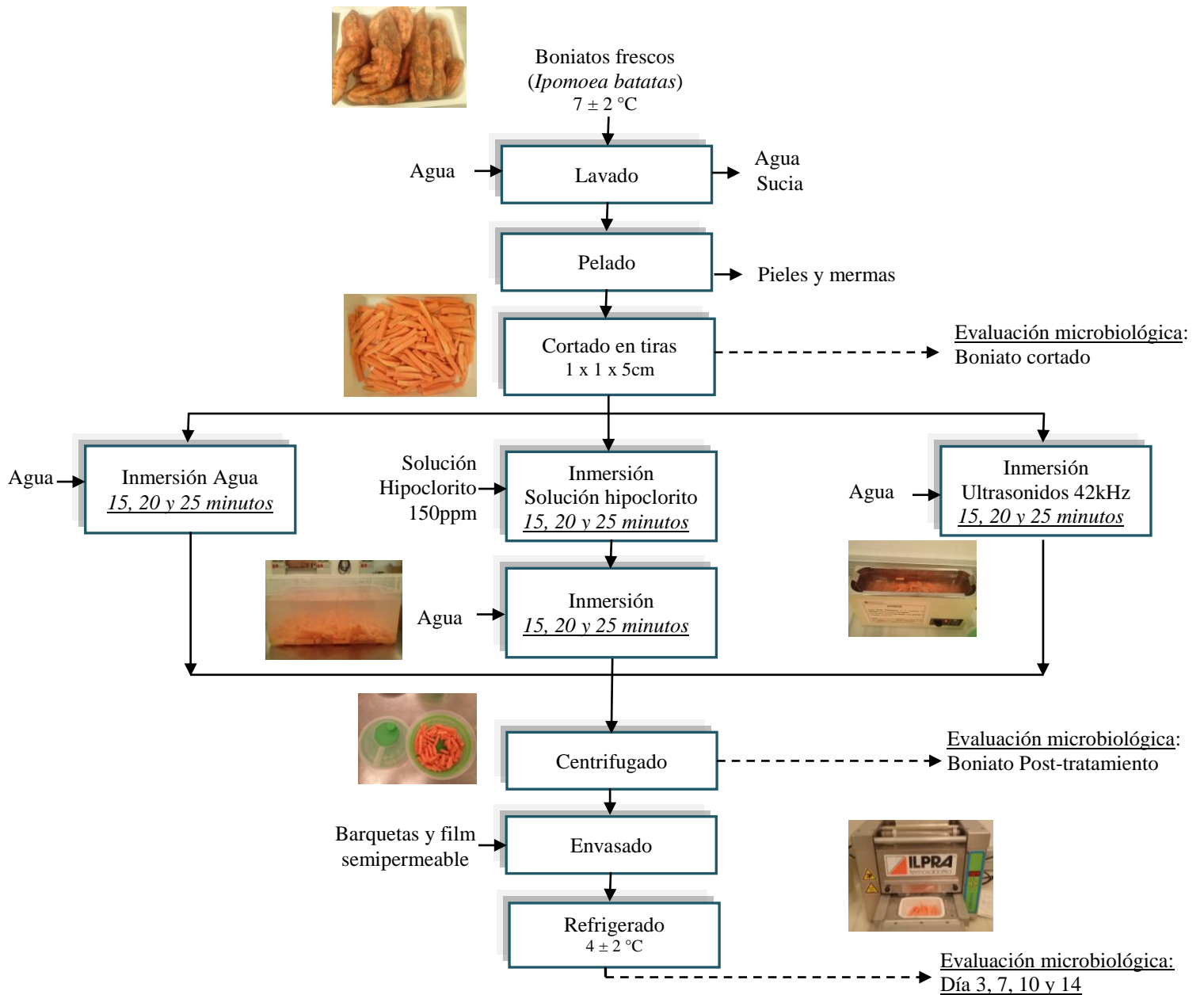


Figura 2. Diseño experimental.

Los tres experimentos siguieron el mismo diagrama experimental. Se inició con la recepción de los boniats, los cuales se mantuvieron en una cámara de refrigeración (7 ± 2 °C). Posteriormente se realizó un lavado con agua para eliminar tierra, piedras y/o objetos extraños. Se realizó un pelado y cortado con máquina especial en forma de tiras uniformes con unas dimensiones 1 x 1 x 5 cm, se

realizó la recogida de muestra estéril para la realización de la evaluación microbiológica del boniato cortado sin tratar.

A continuación, se procedió a una inmersión de 500g de boniato pelado cortado en tiras uniformes en 3 litros del tratamiento correspondiente (relación 1:6) (agua de red, solución de hipoclorito 150ppm o un baño de ultrasonidos de 42 kHz) con el correspondiente tiempo de inmersión 15, 20 y 25 minutos según los experimento 1, 2 y 3 realizados respectivamente en diferentes días. Al finalizar los 15, 20 y 25 minutos de inmersión de los experimentos, la temperatura del agua del baño de ultrasonido siempre aumentaba entre 2 y 4 °C. En el caso del tratamiento con solución de hipoclorito 150 ppm se ha requerido un aclarado posterior con agua de red en la misma proporción y tiempo que el realizado para eliminar el exceso de cloro. La eliminación del exceso de agua en el boniato tratado se realizó mediante una centrifugadora manual y posteriormente, se realizó la recogida de muestra estéril para la evaluación microbiológica del lavado con agua, y de los tratamientos de solución de hipoclorito 150 ppm y de la muestra tratada en baño de ultrasonidos de 42 kHz.

El proceso finalizó con un envasado en atmósfera pasiva en barqueta con film permeable. Se envasaron un total de 72 barquetas de 60 g de boniato tratado. Se almacenaron a 4 ± 2 °C durante 14 días.

3.5. Diseño y métodos evaluación microbiológica

3.5.1. Diseño de la evaluación microbiológica

Las barquetas de cada tratamiento se mantuvieron durante 14 días en cámara de refrigeración y se realizó la evaluación microbiológica que consistía en el recuento de aerobios mesófilos, anaerobios mesófilos, aerobios psicrófilos, mohos y levaduras de dos barquetas por tratamiento con dos bancos de diluciones. La evaluación microbiológica se realizó a día 0, 3, 7, 10 y 14 (Figura 3).

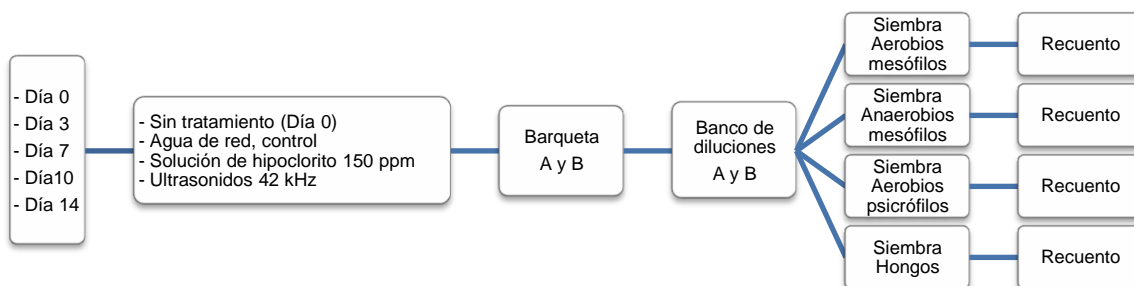


Figura 3. Diseño de la evaluación microbiológica.

3.5.2. Métodos evaluación microbiológica

Con el fin de conocer la reducción microbiana y la estabilidad microbiológica durante la vida útil del alimento, se ha procedido a realizar una serie de análisis microbiológicos según métodos oficiales de la organización internacional de normalización (ISO) de recuento de los grupos de microorganismos aerobios mesófilos, anaerobios mesófilos, aerobios psicrófilos y mohos y levaduras (tabla 15). Las fichas técnicas de los medio de cultivo y del agua peptonada se pueden encontrar en los anexos 8.3. Medio de cultivo de mohos y levaduras, 8.4. Medio de cultivo de aerobios mesófilos, y psicrófilos y anaerobios mesófilos y 8.5. Agua peptonada.

Tabla 15. Métodos microbiológicos seguidos en el experimento.

Microorganismo	Método Oficial	Medio de cultivo	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo de incubación (horas)
Aerobios Mesófilos	ISO 4833:2013	<i>Trypticase Glucose Yeast Agar</i>	30 ± 1	72
Anaerobios Mesófilos	ISO 4833:2013	<i>Trypticase Glucose Yeast Agar</i>	31 ± 1	72
Aerobios Psicrófilos	ISO 17410:2001	<i>Trypticase Glucose Yeast Agar</i>	4 ± 1	168
Mohos y levaduras	ISO 21527-1:2008	Agar Cloramfenicol Glucosado	25 ± 2	120

Fuente: Elaboración propia a partir de normas recogidas en *International Organization for Standardization* (ISO), 2013

Esta evaluación microbiológica se realizó a día 0, 3, 7, 10 y 14 después del experimento para así conocer la estabilidad microbiológica del alimento.

3.5.2.1. Preparación de la muestra (ISO 6887-1:1999)

Como el boniato es una muestra sólida, se ha de proceder a la disolución madre y su correspondiente banco de diluciones según ISO 6887-1:1999.

Todo el material que entra en contacto con la muestra está en todo momento estéril o previamente esterilizado en autoclave. El proceso de la preparación será coger 25g de muestra en una bolsa de *Stomacher*, añadir 225 mL de agua de peptona 1% (previamente preparada, esterilizada y enfriada) y homogeneizar durante 60 segundos con el *Stomacher*.

Al pasar este periodo de tiempo obtendremos lo que se llama disolución madre o 10^{-1} .

Posteriormente, se procede a realizar el banco de diluciones según la carga microbiana que se espera encontrar.

3.5.2.2. Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, anaerobios mesófilos y aerobios psicrófilos

En este caso se ha realizado la siembra en masa añadiendo 1mL de la dilución en una placa, y al medio de cultivo líquido atemperado a 47 °C. Una vez solidificado el medio (para hacer condiciones de anaerobiosis se ha procedido a añadir una fina capa del mismo medio de cultivo), se invierte la placa y se pone a incubar según el microorganismo. Pasado el tiempo de incubación (horas) se hace el recuento total de la placa y se multiplica por el factor de la dilución. Así obtenemos $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$.

Las diluciones sembradas por duplicado fueron las siguientes:

- Muestra boniato sin tratamiento: Se siembran dos placas por dilución de 10^{-1} hasta 10^{-4} .
- Muestra boniato con tratamiento: Se siembran dos placas por dilución de 10^{-2} hasta 10^{-4} .

3.5.2.3. Recuento total de mohos y levaduras

Este recuento se realizó para los experimentos de 20 y 25 minutos de inmersión.

En este caso se ha realizado la siembra en masa añadiendo 1mL de la dilución en una placa petri con el medio de cultivo líquido atemperado a 47°C. Una vez solidificado, se invierte la placa y se pone a incubar a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 5 días.

Pasado el tiempo de incubación se hace el recuento total de la placa y se multiplica por el factor de la dilución. Así obtenemos $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$.

Las diluciones sembradas por duplicado fueron las siguientes:

- Muestra boniato sin tratamiento: Se siembran dos placas por dilución de 10^{-1} hasta 10^{-4} .
- Muestra boniato con tratamiento: Se siembran dos placas por dilución de 10^{-2} hasta 10^{-4} .

3.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las diferentes placas con sus diluciones correspondientes se convirtieron en logaritmos en base 10 y se sometieron a un análisis estadístico mediante el software Minitab 16. Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) de un factor para comparar la materia primera utilizada en los experimentos y de dos factores para comparar tratamiento y tiempo de inmersión en cada tratamiento y *General Line Model* (GLM) para comparar todos los tratamientos con el tiempo de inmersión y los días de almacenamiento.

4. Resultados y discusión

En este apartado se presentan los resultados obtenidos para cada grupo de microorganismo de los tres experimentos que corresponden a los tiempos de inmersión de 15, 20 y 25 minutos en agua, solución de hipoclorito (150 ppm) y baño de ultrasonidos (42 kHz).

4.1. Población microbiana inicial de la materia prima

La microbiota del boniato cortado contenía cantidades superiores de aerobios mesófilos comparados con los otros grupos de microorganismos. En este trabajo el boniato fresco cortado presentaba una población microbiana inicial diferente en los tres experimentos excepto en el grupo de aerobios psicrófilos, que en los experimentos 1 y 2 son iguales. Erturk et al. (2006) al estudiar los efectos del tratamiento de cloro sobre la microbiota del boniato mínimamente procesado encuentra recuentos en el boniato fresco cortado de $5,30 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ en aerobios mesófilos, $3,14 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ en aerobios psicrófilos y $2,74 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ en hongos y levaduras. Allende et al. (2004) obtuvo recuentos en lechuga de aerobios mesófilos $4,15 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ y en aerobios psicrófilos de $3,90 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$. Los resultados obtenidos en los tres experimentos (tabla 16) fueron muy similares con los resultados de Ertuk et al. (2005) en boniato y a los de Allende et al. (2004) en lechuga.

Tabla 16. Población microbiana inicial en el boniato fresco cortado sin tratamiento.

Microorganismo Analizado	Experimento	Recuento $\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$
Aerobios Mesófilos	Experimento 1 (15 minutos)	$4,6 \pm 0,3 \text{ a}$
	Experimento 2 (20 minutos)	$3,6 \pm 0,4 \text{ b}$
	Experimento 3 (25 minutos)	$2,7 \pm 0,1 \text{ c}$
Anaerobios Mesófilos	Experimento 1 (15 minutos)	$3,8 \pm 0,1 \text{ a}$
	Experimento 2 (20 minutos)	$3,5 \pm 0,2 \text{ b}$
	Experimento 3 (25 minutos)	$2,5 \pm 0,1 \text{ c}$
Aerobios Psicrófilos	Experimento 1 (15 minutos)	$3,3 \pm 0,1 \text{ a}$
	Experimento 2 (20 minutos)	$3,3 \pm 0,1 \text{ a}$
	Experimento 3 (25 minutos)	$3,1 \pm 0,1 \text{ b}$
Hongos y Levaduras	Experimento 1 (15 minutos)	-
	Experimento 2 (20 minutos)	$3,1 \pm 0,1 \text{ a}$
	Experimento 3 (25 minutos)	$2,0 \pm 0,3 \text{ b}$

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($n=4$; $P<0,05$).

4.2. Efectos de los tratamientos sobre la carga microbiana en el boniato mínimamente procesado

En los resultados obtenidos de los grupos de microorganismos evaluados se ha aplicado un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores sobre las reducciones microbianas con un nivel de significancia del 5%.

4.2.1. Aerobios mesófilos

En el lavado con agua y el tratamiento de ultrasonidos en los tres tiempos de inmersión estudiados tienen una eficacia similar donde se reduce una unidad logarítmica. El tratamiento con hipoclorito aplicado durante 15 y 20 minutos tiene el mismo efecto reductor de 2 unidades logarítmicas pero con 25 minutos se redujo 1,6 unidades logarítmicas.

Tabla 17. Reducción de aerobios mesófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.

Descripción del tratamiento	Reducción total de aerobios mesófilos	
	log UFC·g ⁻¹	Reducción sobre carga inicial (%)
Control, agua - 15 minutos	-1,2 ± 0,1 ab	27
Control, agua - 20 minutos	-1,0 ± 0,1 a	27
Control, agua - 25 minutos	-1,0 ± 0,2 ab	38
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-1,3 ± 0,1 bc	29
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-1,1 ± 0,1 ab	31
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-1,3 ± 0,1 bc	47
Solución hipoclorito - 15 minutos	-2,1 ± 0,1 d	46
Solución hipoclorito - 20 minutos	-2,0 ± 0,2 d	56
Solución hipoclorito - 25 minutos	-1,6 ± 0,2 c	60

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; P<0,05).

Erturk et al. (2006) aplicó un tratamiento desinfectante clorado de concentración de 50 y 200 ppm durante 5 minutos y obtuvo las reducciones logarítmicas 0,74 y 1,73. Los resultados obtenidos del tratamiento de solución de hipoclorito (150 ppm) fueron superiores a los de Erturk et al. (2006) y Sun et al. (2012) el cual obtuvo una reducción de una unidad logarítmica en aerobios mesófilos del boniato tratado con clorito de sodio acidificado (500 ppm) durante 5 minutos y no tuvo diferencias significativas (P<0,05) respecto a la microbiota inicial en el boniato tratado con hipoclorito de sodio (100ppm) durante 5 minutos de inmersión. Sun et al. (2012) al aplicar estos dos tratamientos anteriores a rábano y zanahoria obtuvo una reducción de aproximadamente una unidad logarítmica

para el rábano y dos unidades logarítmicas para la zanahoria. Comparando los resultados del tratamiento con ultrasonido (42 kHz) de este trabajo con los que muestra Bilek et al. (2013), se puede decir que son similares a los de la zanahoria rallada ya que los dos resultados dieron una reducción de una unidad logarítmica.

La reducción depende de la carga microbiana inicial y en proporción el tratamiento de hipoclorito con 25 minutos de inmersión fue el que obtuvo la reducción más grande siendo esta del 60%. El tratamiento de ultrasonidos con mayor reducción fue con el tiempo de inmersión de 25 minutos, el cual fue muy similar al tratamiento de solución de hipoclorito a 15 minutos.

4.2.2. Anaerobios mesófilos

En los resultados del grupo de microorganismos anaerobios mesófilos no se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0,05$), aunque la menor reducción se encontró en el lavado con agua y la mayor en el tratamiento de solución de hipoclorito, sin que el tiempo de inmersión tuviera efecto (tabla 18).

El lavado con agua y el tratamiento de ultrasonidos en los tres tiempos de inmersión estudiados (15, 20 y 25 minutos) tienen la misma eficacia. La inmersión de los tres tiempos del boniato en la solución de hipoclorito tiene el mismo efecto reductor de 1 unidad logarítmica y estos se diferencian del resto de tratamientos siendo los más efectivos. Hay que destacar que los ultrasonidos a 25 minutos de inmersión presentan una reducción muy similar al agua a 20 minutos de inmersión. Beltran et al. (2005) tuvo reducciones similares en patatas de 0,7 unidades logarítmicas en anaerobios mesófilos con un tratamiento de hipoclorito de sodio (80ppm) aplicado durante 3 minutos y 0,6 unidades logarítmicas con el tratamiento de sulfito de sodio (2g/L) aplicado durante 3 minutos. Según la reducción sobre la carga microbiana inicial, el tratamiento con mayor reducción es la solución de hipoclorito con tiempo de inmersión de 25 minutos seguida del tiempo de inmersión de 20 minutos y del tratamiento de ultrasonidos con tiempo de 25 minutos.

Tabla 18. Reducción de anaerobios mesófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.

Descripción del tratamiento	Reducción total de anaerobios mesófilos	
	log UFC·g ⁻¹	Reducción sobre carga inicial (%)
Control, agua - 15 minutos	-0,6 ± 0,1 a	16
Control, agua - 20 minutos	-0,8 ± 0,0 ab	22
Control, agua - 25 minutos	-0,6 ± 0,1 a	22
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-0,9 ± 0,0 bc	24
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-0,9 ± 0,1 bc	25
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-0,8 ± 0,3 ab	30
Solución hipoclorito - 15 minutos	-1,0 ± 0,1 bc	26
Solución hipoclorito - 20 minutos	-1,1 ± 0,2 c	32
Solución hipoclorito - 25 minutos	-1,1 ± 0,4 c	42

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; $P < 0,05$).

4.2.3. Aerobios psicrófilos

Los aerobios psicrófilos tuvieron las reducciones más altas, alrededor de 2 unidades logarítmicas, siendo la reducción total sobre la carga inicial alrededor de 60% después de 25 minutos de inmersión en agua, de 20 y 25 minutos en ultrasonidos y en los tres tiempos de inmersión en la solución de hipoclorito (tabla 19). Esta reducción puede ser debida a que en este grupo de microorganismos se pueden encontrar *Pseudomonas* las cuales al ser gram-negativas son más susceptibles a estos tratamientos por tener una pared celular fina. Los tratamientos de ultrasonidos y la solución de hipoclorito en los tres tiempos de inmersión tienen aproximadamente la misma eficacia reductora ($P<0,05$). Erturk et al. (2006) obtuvo una menor reducción (0,37 y 0,98 unidades logarítmicas) al aplicar durante 5 minutos los tratamientos de desinfección clorados de 50 y 200 ppm. Bilek et al. (2013) obtuvo reducciones de *Pseudomonas* en trufas superiores a cuatro unidades logarítmicas en ultrasonidos de 35kHz con etanol (70%) durante 10 minutos a una temperatura de 4°C. Allende et al. (2004) obtuvo reducciones de 1,5 unidades logarítmicas en lechuga desinfección con concentraciones de cloro de 160 a 180 ppm durante un minuto. Comparando los resultados obtenidos en este trabajo se puede decir que se ha obtenido reducciones similares a las que obtuvo Allende et al. (2004) en la lechuga.

Tabla 19. Reducción de aerobios psicrófilos según tratamiento y tiempo de inmersión.

Descripción del tratamiento	Reducción total de aerobios psicrófilos	
	log UFC·g ⁻¹	Reducción sobre carga inicial (%)
Control, agua - 15 minutos	-1,5 ± 0,1 a	45
Control, agua - 20 minutos	-1,6 ± 0,1 ab	48
Control, agua - 25 minutos	-2,0 ± 0,2 bc	63
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-1,9 ± 0,3 bc	56
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-2,1 ± 0,3 c	62
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-2,1 ± 0,2 c	66
Solución hipoclorito - 15 minutos	-2,2 ± 0,2 c	65
Solución hipoclorito - 20 minutos	-2,2 ± 0,2 c	66
Solución hipoclorito - 25 minutos	-2,2 ± 0,0 c	68

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; $P<0,05$).

4.2.4. Mohos y levaduras

Los mohos y las levaduras tuvieron una menor reducción siendo esta de una unidad logarítmica, en el lavado con agua en los tiempos de inmersión de 20 y 25 minutos y en el tratamiento de ultrasonidos (42kHz) a 25 minutos de inmersión. La solución de hipoclorito con tiempo de inmersión de 25 minutos tubo una diferencia significativa ($P>0,05$) en la reducción logarítmica respecto los demás tratamientos y tiempos de inmersión. Estas reducciones son similares a las que obtuvo Bilek et al. (2013) en zanahoria rallada al aplicar ultrasonidos de 45kHz durante un minuto y en trufas con tratamiento de ultrasonidos de 35kHz durante 10 minutos a 4°C. Erturk et al. (2006) obtuvo en boniato una menor reducción (0,39 y 0,63) al aplicar el tratamiento de desinfección clorado de 50 y 200 ppm durante 5 minutos.

La mayor reducción sobre la carga microbiana fue en los tratamientos de hipoclorito y ultrasonidos con 25 minutos de inmersión, siendo la mayor reducción del 100% (tabla 20).

Tabla 20. Reducción de mohos y levaduras según tratamiento y tiempo de inmersión.

Descripción del tratamiento	Reducción total de mohos y levaduras	
	log UFC·g ⁻¹	Reducción sobre carga inicial (%)
Control, agua - 20 minutos	-1,4 ± 0,4 ab	47
Control, agua - 25 minutos	-1,1 ± 0,6 a	58
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-1,8 ± 0,3 c	57
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-1,3 ± 0,8 ab	65
Solución hipoclorito - 20 minutos	-1,7 ± 0,3 c	55
Solución hipoclorito - 25 minutos	-2,0 ± 0,0 d	100

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; $P<0,05$).

4.2.5. Tratamiento desinfectante más efectivo

Al analizar todas las reducciones a las que se han sometidos los microorganismos después del lavado con agua y los dos tratamientos desinfectantes, el que resulta más efectivo para todos los grupos de microorganismos estudiados es la solución de hipoclorito aplicada durante 20 minutos. Sin embargo, la inmersión en ultrasonidos durante 25 minutos consigue también una reducción similar en todos los grupos de microorganismos, excepto en el grupo aerobios mesófilos. En la figura 4 se puede ver la comparación de las reducciones de estos dos tratamientos con el agua a tiempo de inmersión de 25 minutos. La reducción obtenida por el agua no es significativamente diferente de las obtenidas con ultrasonidos en el grupo de aerobios mesófilos y aerobios psicrófilos pero si existe una diferencia significativa en el grupo de los anaerobios mesófilos y mohos y levaduras. La solución de hipoclorito se diferencia por su alta eficacia en los aerobios y anaerobios mesófilos y mohos y levaduras. Finalmente, los resultados presentados sugieren que la efectividad de los tratamientos, así como el mecanismo de inactivación por ultrasonido, podría estar relacionada con la naturaleza de los microorganismos tratados ya que en los ensayos realizados se observó que el grado de inactivación fue diferente para cada uno de ellos.

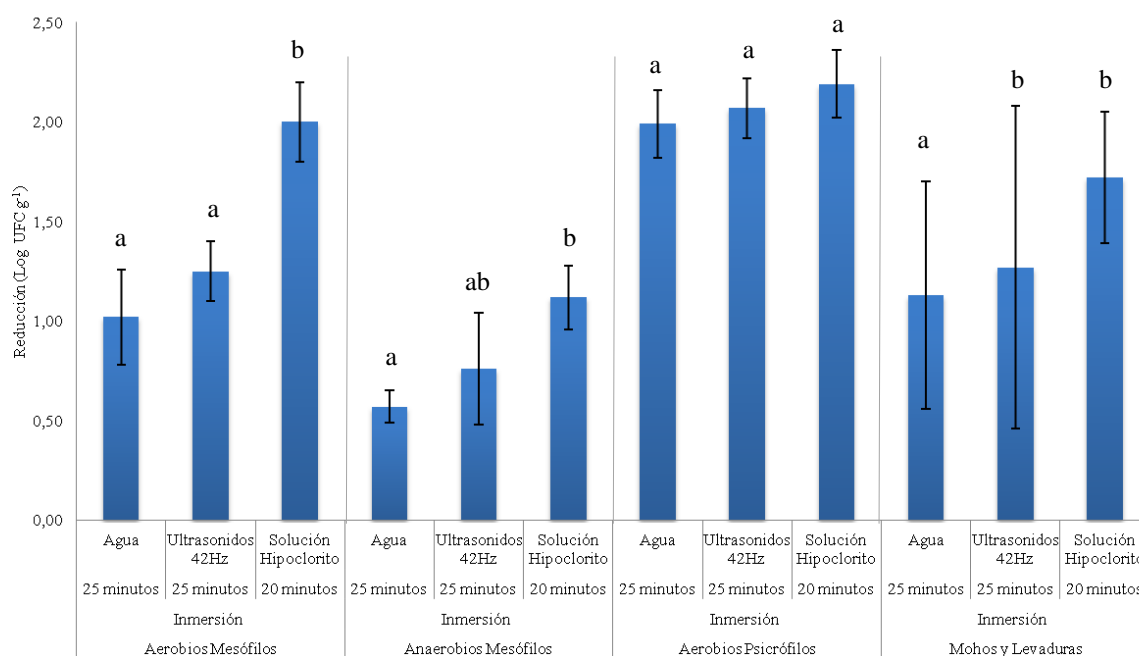


Figura 4. Reducción microbiológica de los diferentes tratamientos estudiados más efectivos. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; P<0,05).

4.3. Evolución de la carga microbiana durante el almacenamiento del boniato mínimamente procesado

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de cada grupo de microorganismos durante 14 días de almacenamiento y su comparación con un *General Line Model* (GLM) para comparar todos los tratamientos con el tiempo de inmersión y los días de almacenamiento a un nivel de significancia del 95%.

4.3.1. Aerobios mesófilos

En la tabla 21 se reporta la evolución de los aerobios mesófilos respecto la población inicial siendo los valores negativo la reducción y los valores positivos el crecimiento. En los tiempos de inmersión de 20 y 25 minutos en agua se observó un fuerte incremento a partir del séptimo día de almacenamiento y aceleraron su crecimiento a partir del tercer día de almacenamiento. Según la legislación española (R.D. 3484/2000) en la elaboración del producto se obtuvieron recuentos inferiores a 10^5 UFC·g⁻¹. El tratamiento de ultrasonidos con 15 minutos de inmersión al igual que el lavado de agua con 15 minutos de inmersión no obtuvieron crecimiento microbiano hasta el día 14. El tratamiento con solución de hipoclorito y con ultrasonido al principio del almacenamiento tiene diferencias en la reducción pero a los 14 días de almacenamiento los crecimientos se igualan a causa de que la solución de hipoclorito acelera el crecimiento a partir del décimo día ($P < 0,05$).

Tabla 21. Evolución de aerobios mesófilos durante 14 días respecto a la población inicial.

Reducción (-) / Crecimiento (+)	Evolución de aerobios mesófilos respecto población inicial (Pi) - (log UFC·g ⁻¹)				
	Días de almacenamiento				
Descripción del tratamiento	0 días	3 días	7 días	10 días	14 días
Control, agua - 15 minutos	-1,2 b	-1,8 ab	-1,1 b	-0,5 c	1,3 de
Control, agua - 20 minutos	-1,0 b	0,0 c	1,0 de	1,1 de	2,0 e
Control, agua - 25 minutos	-1,0 b	0,5 cd	0,4 cd	2,3 e	2,7 ef
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-1,3 b	-2,0 a	-1,3 b	-1,2 b	0,6 cd
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-1,1 b	-0,2 c	-0,1 c	0,6 d	1,1 de
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-1,3 b	0,4 c	0,2 cd	1,0 de	1,4 de
Solución hipoclorito - 15 minutos	-2,1 a	-2,1 a	-1,7 ab	-1,3 b	0,0 c
Solución hipoclorito - 20 minutos	-2,0 a	-0,5 bc	-0,5 bc	-0,4 c	1,1 de
Solución hipoclorito- 25 minutos	-1,6 b	0,1 c	0,2 c	0,5 cd	1,1 de

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($n=4$; $P < 0,05$).
Evolución respecto la población inicial (Pi-Pf).

Las bacterias aerobias mesófilas como las del género *Streptomyces* y *Bacillus*, gram-positivas, puede que sean resistentes al tratamiento de los ultrasonidos.

El lavado con agua y los dos tratamientos con sus correspondientes tiempos de inmersión estarían dentro de lo que dicta el reglamento R.D. 3484/2000, para poder comercializarlos con valores mínimos a 10^6 - 10^7 UFC·g⁻¹, sin embargo, el lavado de agua con tiempo de inmersión de 15 minutos a día 14 estaría al límite de su comercialización (figura 5). Los tratamientos de ultrasonidos y solución de hipoclorito con 20 y 25 minutos de inmersión podrían estar más días en el mercado siempre y cuando no se vean afectadas sus características organolépticas. Erturk et al. (2006) obtuvo recuentos de 8 unidades logarítmicas en boniato al aplicar los tratamientos desinfectantes clorados de concentraciones de 50 y 200 ppm durante 5 minutos y almacenar durante 14 días a 2°C. Sun et al. (2012) evaluaron la evolución durante 6 días de almacenamiento a 10°C en la patata y en boniato sometidos a tratamientos de cinco minutos de inmersión en clorito de sodio acidificado (500ppm) e hipoclorito de sodio (100ppm) y observaron que en los dos tratamientos al cabo de los 5 días el boniato llegó a recuentos de 10^9 UFC·g⁻¹ y la patata a 10^6 UFC·g⁻¹. Comparando con los resultados obtenidos en este trabajo con los de Erturk et al. (2006) y los de Sun et al. (2012), los tratamientos que han tenido mayor eficacia han sido los ultrasonidos (42kHz) y la solución de hipoclorito (150ppm) en los tres tiempos de inmersión.

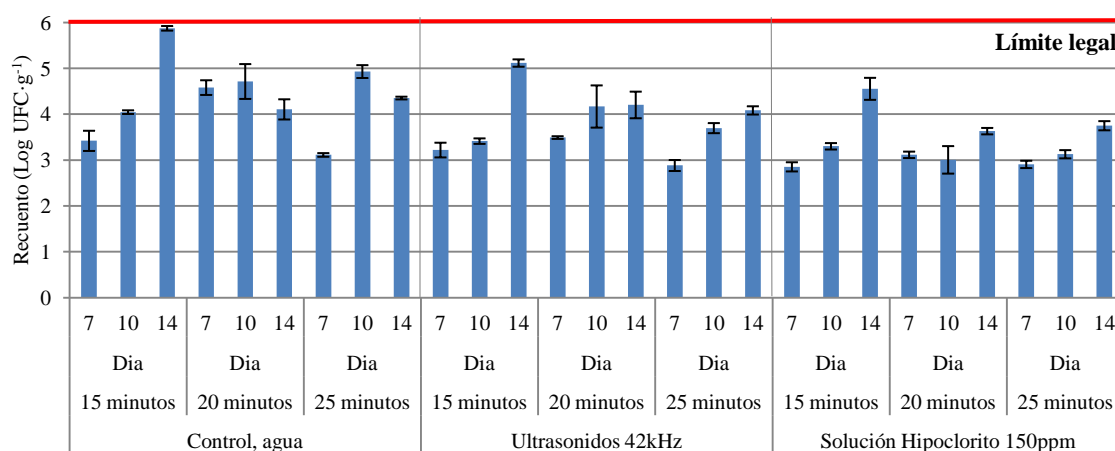


Figura 5. Evolución aerobios mesófilos en los días 7, 10 y 14.

4.3.2. Anaerobios mesófilos

En los anaerobios mesófilos podemos encontrar bacterias del género *Erwinia* las cuales son gram-negativas lo que las hace más susceptibles a los ultrasonidos y no producen esporas, sin embargo también se pueden encontrar bacterias del género *Bacillus* y *Clostridium* que poseen de una pared celular gram-positiva que las hace más resistentes al efecto de la cavitación del tratamiento de ultrasonidos y que aparte, producen esporas. En el lavado de agua con los tres tiempos de inmersión se observó un fuerte incremento a partir del décimo día de almacenamiento (tabla 22), siendo más elevado con diferencia significativa a 25 minutos de inmersión ($P>0,05$). Si se compara la evolución de los tiempos de inmersión del agua y los dos tratamientos (hipoclorito y ultrasonido) a los 14 días de almacenamiento, se puede ver que el tratamiento de hipoclorito fue el que menos crecimiento obtuvo seguido de los ultrasonidos. Analizando los resultados obtenidos se puede decir que el tratamiento de solución de hipoclorito con 15 minutos de inmersión a los 14 días tuvo la misma reducción que al tercer día del lavado de agua con 20 y 25 minutos de inmersión y los ultrasonidos y la solución de hipoclorito con 25 minutos de inmersión.

Tabla 22. Evolución de anaerobios mesófilos durante 14 días respecto a la población inicial.

Reducción (-) / Crecimiento (+)	Evolución de anaerobios mesófilos respecto población inicial (Pi) - (log UFC·g ⁻¹)				
	Días de almacenamiento				
Descripción del tratamiento	0 días	3 días	7 días	10 días	14 días
Control, agua - 15 minutos	-0,6 ab	-0,5 ab	-0,5 ab	0,7 c	1,6 d
Control, agua - 20 minutos	-0,8 ab	0,1 bc	0,4 bc	0,7 c	1,8 d
Control, agua - 25 minutos	-0,6 ab	0,3 bc	0,5 bc	2,3 de	2,6 e
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-0,9 ab	-0,7 ab	0,7 c	0,7 c	1,1 cd
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-0,9 ab	-0,2 b	0,1 bc	0,4 bc	1,3 cd
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-0,8 ab	0,1 bc	0,2 bc	1,6 d	2,3 de
Solución hipoclorito - 15 minutos	-1,0 a	-1,3 a	-0,8 ab	-0,3 b	0,4 bc
Solución hipoclorito - 20 minutos	-1,1 a	-0,2 b	-0,1 b	0,3 bc	0,6 c
Solución hipoclorito- 25 minutos	-1,1 a	0,1 bc	0,0 bc	1,0 c	1,1 cd

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($n=4$; $P<0,05$). Evolución respecto la población inicial (Pi-Pf).

Dado que en el grupo de anaerobios mesófilos podemos encontrar la mayoría de patógenos, el reglamento de R.D. 3484/2000 y el Reglamento CE 2073/2005 modificado por el Reglamento 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007 establecen la ausencia de *Salmonella* en 25 gramos e inferior a 10^2 UFC·g⁻¹ de *Escherichia Coli*. Según consultores en producción, comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca (2000), para alimentos que posteriormente se van a cocinar se establece que los anaerobios mesófilos sulfito reductores no debían ser superiores a $1,5 \times 10^4$ UFC·g⁻¹. Visto que el recuento de anaerobios mesófilos es alto se debería realizar una evaluación de los microorganismos patógenos para así confirmar que cumplen la legislación española y son alimentos seguros. Sun et al. (2012) evaluaron la evolución durante 6 días de almacenamiento a 10°C en la patata y en boniato sometidos a tratamientos de cinco minutos de inmersión en clorito de sodio acidificado (500ppm) y hipoclorito de sodio (100ppm) y observaron que en los dos tratamientos, al cabo de los 5 días, el boniato llegó a recuentos de 10^6 UFC·g⁻¹ y la patata a 10^5 UFC·g⁻¹. Comparando los resultados obtenidos de los tratamientos desinfectantes vistos en este trabajo (figura 6), no se llegaron a los valores de los tratamientos de Sun et al. (2012).

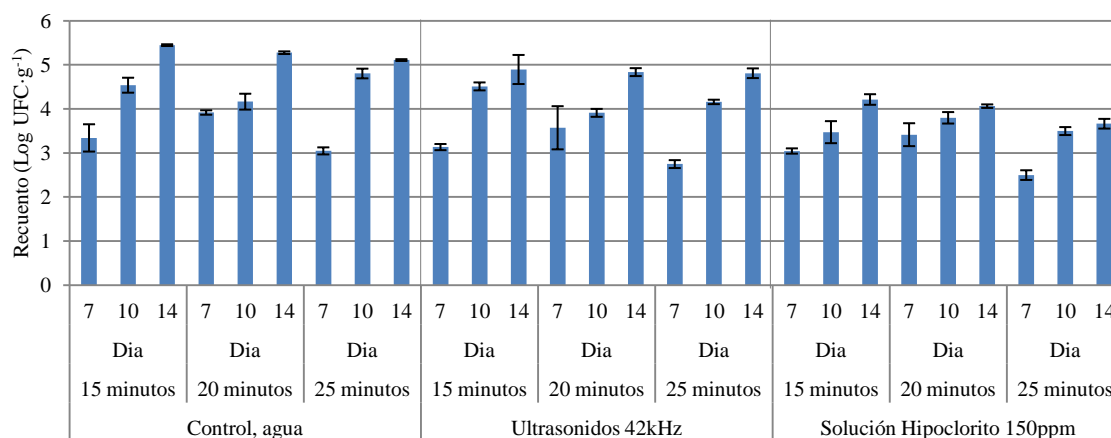


Figura 6. Evolución anaerobios mesófilos en los días 7, 10 y 14.

4.3.3. Aerobios psicrófilos

Al almacenar el producto bajo condiciones de refrigeración, los microorganismos aerobios psicrófilos están en su temperatura óptima, aumentando así la velocidad de su crecimiento (Allende et al., 2004). En este grupo podemos encontrar algunos patógenos como las *Pseudomonas* las cuales gracias al tener una forma bacilar y una pared celular gram-negativa son más susceptibles a la cavitación producida por los ultrasonidos. En el lavado con agua y los tratamientos de ultrasonidos y solución de hipoclorito, el tiempo de inmersión de 25 minutos resultó tener una evolución con una carga microbiana a día 14 sin diferencia significativa ($P < 0,05$) (tabla 23).

Tabla 23. Evolución de aerobios psicrófilos durante 14 días respecto a la población inicial.

Reducción (-) / Crecimiento (+)	Evolución de aerobios psicrófilos respecto población inicial (Pi) - (log UFC·g ⁻¹)				
	Días de almacenamiento				
Descripción del tratamiento	0 días	3 días	7 días	10 días	14 días
Control, agua - 15 minutos	-1,5 ab	0,5 cd	0,6 d	0,9 d	1,5 de
Control, agua - 20 minutos	-1,6 ab	-0,9 bc	-0,8 bc	0,0 c	1,7 e
Control, agua - 25 minutos	-2,0 a	-1,6 ab	-1,0 b	0,1 cd	0,2 cd
Ultrasonidos 42kHz - 15 minutos	-1,9 ab	-1,6 ab	0,5 cd	0,9 d	1,6 e
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-2,1 a	-2,1 a	-1,0 b	-0,1 c	1,6 e
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-2,1 a	-2,1 a	-1,8 ab	-0,1 c	0,2 cd
Solución hipoclorito - 15 minutos	-2,2 a	-2,1 a	-0,6 bc	-0,5 bc	0,3 cd
Solución hipoclorito - 20 minutos	-2,2 a	-2,0 a	-1,2 b	-0,5 bc	0,7 d
Solución hipoclorito- 25 minutos	-2,2 a	-2,1 a	-1,9 ab	-0,3 c	-0,1 c

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($n=4$; $P < 0,05$).
Evolución respecto la población inicial (Pi-Pf).

Erturk et al. (2006) obtuvo recuentos de 7 unidades logarítmicas en boniato al aplicar el tratamiento desinfectante clorado de 50 y 200 ppm durante 5 minutos y almacenar durante 14 días a 2°C. Oms et al. (2008) obtuvo en melón (piel de sapo) mínimamente procesado sin atmósfera modificada un recuento a partir del día 14 de 10^8 UFC·g⁻¹, tres unidades logarítmicas más de las que se obtuvo en el boniato lavado con agua y desinfectando con ultrasonidos. Allende et al. (2004) le aumentaron 5 a 8 unidades logarítmicas después de 7 días a 5°C en lechuga desinfectada con cloro 160 a 180ppm. Los resultados obtenidos son similares a los que obtuvo Oms et al. (2008) en boniato con ultrasonidos a partir del día 14 con recuentos de cinco unidades logarítmicas.

En este grupo el patógeno que podemos encontrar y que está regulado por la legislación española, R.D. 3484/2000, es *Listeria Monocytogenes*. La legislación dicta que no se debe de comercializar con valores superiores a 10^2 UFC·g⁻¹. Según los resultados obtenidos (figura 7) se debería de realizar una evaluación para este patógeno ya que el crecimiento del grupo en el que se encuentra es elevado y por los resultados obtenidos se puede ver a partir del séptimo día un fuerte crecimiento microbiano y podría ser un factor limitante en la vida útil de su comercialización.

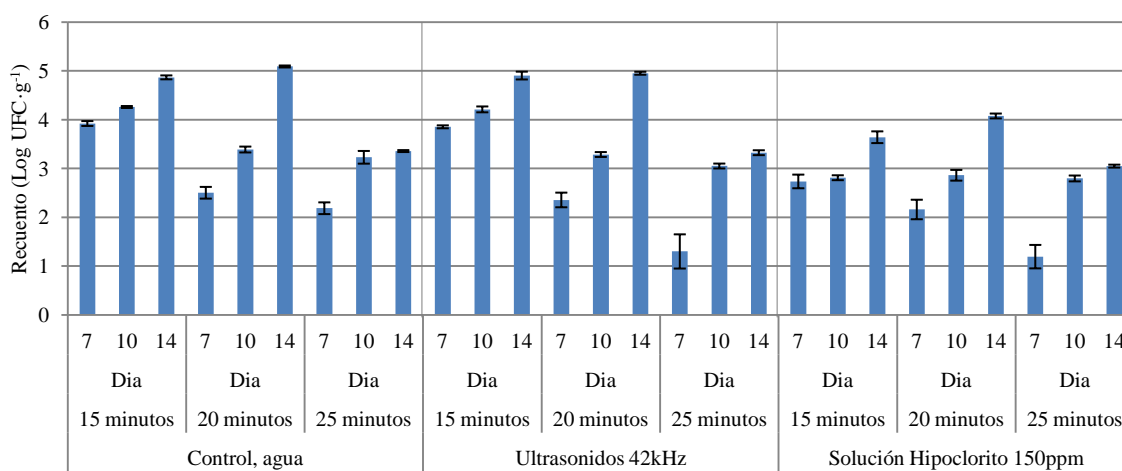


Figura 7. Evolución aerobios psicrofílicos en los días 7, 10 y 14.

4.3.4. Mohos y levaduras

En la tabla 24 figura la evolución durante los 14 días de almacenamiento para los experimentos 2 y 3 (20 y 25 minutos de inmersión). El tratamiento de hipoclorito con 25 minutos de tiempo de inmersión respecto al resto de tratamientos presenta una diferencia significativa, teniendo este un bajo recuento de mohos y levaduras a los 14 días. El ultrasonido de 25 minutos tiene el mismo efecto que la solución de hipoclorito de 20 minutos y que el agua a 20 minutos. Se puede decir que todos los tratamientos tuvieron un efecto reductor de carga microbiana muy similar.

Tabla 24. Evolución de mohos y levaduras durante 14 días respecto a la población inicial.

Reducción (-) / Crecimiento (+)	Evolución de mohos y levaduras respecto población inicial (Pi) - (log UFC·g ⁻¹)				
	Días de almacenamiento				
	0 días	3 días	7 días	10 días	14 días
Descripción del tratamiento					
Control, agua - 20 minutos	-1,4 b	-1,0 b	-0,5 bc	0,0 cd	0,1 cd
Control, agua - 25 minutos	-1,1 b	-0,2 c	0,2 d	0,4 cd	0,4 cd
Ultrasonidos 42kHz - 20 minutos	-1,8 ab	-1,0 b	-0,9 bc	-0,7 bc	-0,2 c
Ultrasonidos 42kHz - 25 minutos	-1,3 b	-0,8 bc	-0,2 c	0,2 cd	0,1 cd
Solución hipoclorito - 20 minutos	-1,7 ab	-1,6 ab	-1,2 b	-1,0 b	-0,9 bc
Solución hipoclorito- 25 minutos	-2,0 a	-2,0 a	-0,6 bc	-0,4 c	-0,4 c

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (n=4; P<0,05). Evolución respecto la población inicial (Pi-Pf).

Según Pascual et al. (2000), los mohos y levaduras no pueden sobrepasar valores de 10⁴ UFC·g⁻¹, por lo tanto, este no sería un impedimento para el producto una vez procesado ya que a los 14 días ningún tratamiento y tiempo de inmersión supera este valor (figura 8). Erturk et al. (2006) obtuvo recuentos después de almacenar durante 14 días a 2°C de 3 unidades logarítmicas en boniato al aplicar el tratamiento desinfectante clorado de 50 y 200 ppm durante 5 minutos, muy similar a los resultados obtenidos en este trabajo) y 7 unidades logarítmicas al no aplicar ningún tratamiento.

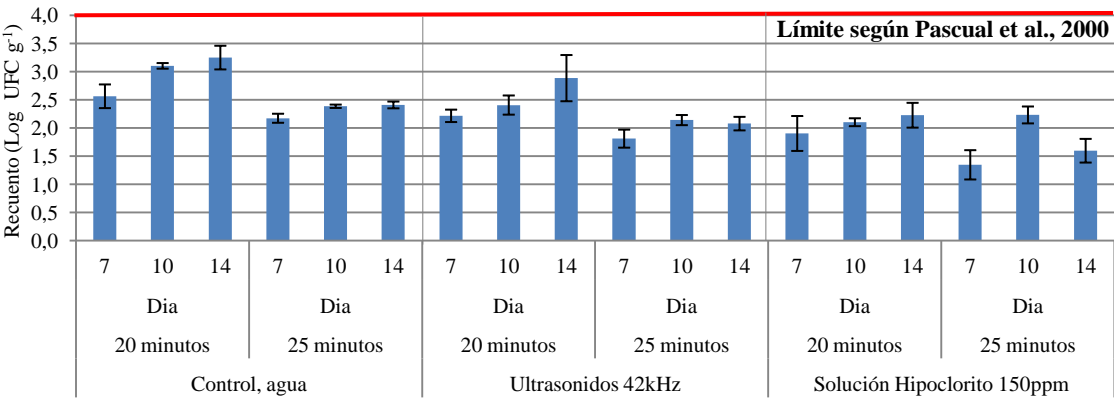


Figura 8. Evolución mohos y levaduras en los días 7, 10 y 14.

5. Conclusiones

Según los resultados presentados en este trabajo, se concluye que:

- En todos los tratamientos se observó que a mayor tiempo de inmersión se obtuvieron mayores reducciones de los cuatro grupos de microorganismos estudiados.
- El tratamiento desinfectante más eficaz para todos los grupos de microorganismos evaluados es la solución de hipoclorito de 150ppm con tiempo de inmersión de 20 y 25 minutos.
- El tratamiento de ultrasonidos de alta potencia con un tiempo de inmersión de 25 minutos consiguió resultados similares a la solución de hipoclorito con 20 minutos de inmersión.
- El tratamiento con ultrasonidos de alta potencia a los tiempos de inmersión aplicados fue efectivo para reducir significativamente la carga microbiana de aerobios mesófilos, anaerobios mesófilos, aerobios psicrófilos y mohos y levaduras, siendo los aerobios psicrófilos y mohos y levaduras los más sensibles y los aerobios mesófilos y anaerobios mesófilos los más resistentes.
- En todos los tratamientos y tiempos estudiados la calidad microbiológica del boniato mínimamente procesado estuvo limitada por el crecimiento de anaerobios mesófilos y de sus posibles patógenos.

Como recomendación final, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se propondría continuar investigando el efecto de los ultrasonidos de alta potencia para su implementación a nivel industrial, como una alternativa a la desinfección con soluciones de hipoclorito o como complemento a las mismas, para la reducción de carga microbiana y/o minimización de uso de los desinfectantes químicos

6. Referencias bibliográficas

- Allende, A., Aguayo, E., Arte's, F. (2004). Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *International Journal of Food Science and Technology*, 91: 109– 117
- Awad T.S., Moharram H.A., Shaltout O.E., Asker D., Youssef M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48: 410–427
- Barbosa-Canovas, G. (2000). *Novel Food Processing Technologies*. Ed. CRC PRESS, 1ª ed.
- Barth M., Hankinson T., Zhuang H., and Breidt F. (2009). Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. *Food Microbiology and Food Safety* (135-183)
- Beltran D., Selma M, Tudela J.A., Gil M. (2005). Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. *Postharvest Biology and Technology* 37: 37–46
- Bilek S.E., Turantaş F. (2013). Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. *International Journal of Food Microbiology* 166: 155–162.
- Cantwell M. (2013). *ABC Manual Técnico de frutas y verduras*. University of California
- Clark C.A. y Moyer J.W. (1988). *Compendio de las enfermedades de la batata*. Ed. Centro internacional de la papa.
- Erturk E. & Picha D. (2006). Microbiological quality of fresh-cut sweet potatoes. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 366–374.
- Gao S., Lewis G., Ashokkumar M., Hemar Y. (2014). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21: 446–453.
- Gil M., Selma M. , López-Gálvez F., Allende A. (2009). Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology* 134: 37–45.
- Jung C., Budesá B., Fässlér F., Uehlinger R., Müller T., Wild M. (2010). Effect of cavitation ultrasound- assisted cleaning of medical devices. *Material und Oberflächentechnologie für Implantate*, Interlaken , Switzerland, 11.
- Lerena J.I. y Lerena C.A. (2000). *Limites críticos*. Fundación Agustina Lerena - Consultores en Producción, Comercialización & HACCP para Industrias y Servicios de Alimentación y Pesca ASSISTANCE FOOD ARGENTINA S.A. Member of the Association of Food and Drug Officials of USA

- Monteiro C.. Principales enfermedades del boniato y pautas para su control.
- O'Brien, W.D. (2007). Ultrasound–biophysics mechanisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93: 212-255.
- O'Donnell C.P. Tiwari, B.K., Bourke, P. y Cullen, P.J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science y Technology*, 21: 358-367
- Ölmez H., Kretzschmar U. (2009). Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *Food Science and Technology*, 42: 686–693
- Oms, G., Martín, O., Soliva, R. (2008). Alternativas de envasado en pera y melón frescos cortados en atmósfera modificada. Universitat de Lleida. Escola tecnica superior d'Enginyeria agrària. Departament de Tecnologia d'Aliments.
- Oner E. y Wall M. (2013). Quality of fresh-cut purple-fleshed sweet potatoes after X-ray irradiation treatment and refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 2064–2070.
- Osorio F., Torres J y Sanchez M (2010). Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes. Ed. Diaz de Santos, 1ªed
- Pascual Anderson M.R y Calderón y Pascual V. (2000). Microbiología alimentaria. Ed. Diaz de Santos, 2ªed.
- Pineda D. (2012). Preservación de los alimentos por ultrasonido. Innovación y desarrollo tecnológico. Ministerio de economía El Salvador.
- Pingret D., Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, Farid Chemat (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31: 593-606.
- Piyasena P., Mohareb E., McKellar R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology* 87: 207– 216.
- Ramos B., Miller F.A., Brandão T.R.S., Teixeira P., Silva C.L.M. (2013). Fresh fruits and vegetables-An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 20: 1–15
- REAL DECRETO 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas.
- REGLAMENTO (CE) No 1441/2007 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Rodríguez Lupiáñez, G.(1984). La batata y su cultivo. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación.


- Seymour, Burfoot D., Smith R., Cox L. & Lockwood A. (2002). Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 547–557.
- Sun Shih Hui , Su Jin Kim, Soo Jin Kwak, and Ki Sun Yoon (2012). Efficacy of Sodium Hypochlorite and Acidified Sodium Chlorite in Preventing Browning and Microbial Growth on Fresh-Cut Produce. Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701

7. Recursos electrónicos

- Agroards. [en línea]. <<http://www.agroads.com.ar/noticias/story.php?title=la-batata-una-hortaliza-con-propiedades-funcionales>> [Consulta: 16/04/2014].
- Food and Agriculture Organization of the United Station. [en línea]. <<http://www.fao.org/docrep/x5415e/x5415e01.htm>> [Consulta: 16/12/2013].
- ILPRA [en línea]. <http://www.ilpra.es/es/maquinaria-ensvasado.html?page=shop.product_details&product_id=122&flypage=vmj_naru.tpl&pop=0> [Consulta: 12/01/2014].
- ISO. [en línea] <<http://www.iso.org>>. [Consulta: 11/09/2013].
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente [en línea]. <http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/batata_tcm7-315442.pdf> [Consulta: 16/12/2013].
- Proveedor medio cultivo. [en línea]. <<http://www.scharlab.com/>>. [Consulta: 11/09/2013].
- United States Department of Agriculture. [en línea]. <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3254?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=batata>>. [Consulta: 16/12/2013].

8. Anexos

8.1. Film semipermeable



HIGH PERFORMANCE PACKAGING
tecnopack®

Via R. Sanzio, 136 - 27036 MORTARA (PV) – ITALY - Tel 0039.0384.90399 - Fax 0039.0384.91699
E-mail: tecnopack@tecnopack.it - Internet: www.tecnopack.it

TECHNICAL DATA SHEET

CODE : P12-2050MFNP

Thermosealing Microperforated Film on PP and on ITSELF

Description: Thermosealing film not peelable on Polypropylene and on itself. Transparent or printable film, microperforated, excellent optical characteristics and good sealability also in presence of contamination.

Application: the film can withstand temperatures down to -20°C but it doesn't withstand thermic treatments in general**.

TYPICAL PROPERTIES	UNIT	TYPICAL VALUES	TEST METHODS
Total thickness	micron	64	
Basic weight	g/m ²	64.05	
Yield	m ² /kg	15.61	
PET	micron	12	
ADHESIVE	micron	2	Internal method (PO 05)
PP	micron	50	
O ₂ TR	ml/m ² /24h/bar	> 8100	23°C, U.R. 0% (from literature)
WVTR	g/m ² /24h/bar	> 600	38°C, U.R. 90% (from literature)
Sealing temperature*	°C	140 – 180	Internal method (IL 102: 6 bar, 1 second)
Thermic treatments**	-	NO	Internal method (IL 106: autoclave in counterpression)

DESCRIPTION OF SUPPLY	
Internal core diameter	76 mm
Width range (standard)	150 mm – 850 mm (other on request), tolerance ± 1 mm
Length range (standard)	150 m – 650 linear m (other on request), tolerance ± 1 l. m
Tolerance on final reel weight	± 7%

* These values are referred to internal tests and are only indicative.
Since a lot of parameters are involved in the sealing tack, as temperature, time, pressure and profile of sealing, as well as the final application of film, we suggest making tests to achieve the required result. These values may sensibly change according to the type of PP of trays.

** As "thermic treatments" we intend treatments in water vapor-saturated environment (autoclave, steaming tunnel, bagnomaria, etc.)

The user is recommended to trial the film to confirm performances prior to full-scale production

We declare this material in compliance with :

- D.M. del 21/03/1973, and subsequent amendments.
- European Directive 2002/72/EC dd 06.08.2002 and subsequent amendments.
- European Directive 94/62/EC and subsequent amendments (heavy metals).
- European Regulation 2004/1935/EC
- European Regulation 2006/2023/EC

Take carefully note of storing instructions reported on external package. Reported data are only indicative and may be varied by us without any notice.
Rev 02 dd 16.02.2011 – Issued by ACQ (Dr. C. Scavini) – Computerized form, valid without signature.

8.2. Barqueta



SCHEDA TECNICA
TECHNICAL SHEET
FICHE TECHNIQUE

Ultima modifica / Last modification / Dernier modification 20/10/2008

Codice art. / Item code / Référence art. **GN18H36**

Descrizione / Description / Description **VASCHETTA / TRAY / BARQUETTE 1/8 GASTRONORM H. 36**

CARATTERISTICHE / FEATURES / CARACTÉRISTIQUES

Dimensioni Dimensions Dimensions	mm. (± 0,5%)	160 x 130 x 36 h.
Capacità Capacity Capacité	ml. (± 0,5%)	430
Peso Weight Poids	gr. (± 5%)	18,0
Spessore minimo Minimum thickness Épaisseur minimum	mm. (± 5%)	0,57
Materiale Raw Material Matière	Polipropilene di 1a scelta per alimenti First-quality Polypropylene for food Polypropylène de première qualité pour aliments	

CONFEZIONAMENTO / PACKAGING / CONDITIONNEMENT

Pezzi per scatola Pieces per box Quantité par carton		720
Scatole per pallet Boxes per pallet Cartons par pallet		24
Pezzi per pallet Pieces per pallet Quantité par pallet		17.280
Dimensioni scatola Box dimensions Dimensions carton	cm.	41 x 33,5 x 55 h.
Dimensioni pallet Pallet dimensions Dimensions pallet	cm.	80 x 120 x 235 h.

Le materie prime sono testate come descritto nella Dichiarazione di Conformità vigente.

Raw materials are tested as described in the Declaration of Compliance in force.

Les matières premières ont été testées conformément à la Déclaration de Conformité en vigueur.

I prodotti possono essere anche colorati. Tutti i master sono atossici con idoneità alimentare.

The products can be coloured, too. All the masterbatches are nontoxic, with food suitability.

Les produits peuvent être aussi colorés. Tous les masters sont atoxiques avec aptitude alimentaire.

Nota: si consiglia di non sovrapporre i bancali. - Note: it is advisable not to put the pallets one on the top of another one. - Annotation: il est conseillé de ne pas superposer les palettes l'une sur l'autre.

CONDIZIONI DI UTILIZZO / USE CONDITIONS / CONDITIONS D'USAGE (*)



Film di chiusura Sealing film Film du scellage	Pelabile e non pelabile, con supporto in PP Peelable and not peelable, with PP support Pelable et non pelable, avec support in PP	
Temperatura di utilizzo Use temperature Temperature d'usage	Copolimero neutro, bianco e colorato Neutral, white and coloured copolymer Copolymère neutre, blanc et coloré	-20 °C / +120 °C
	Trasparente e miscela omopolimero+copolimero Transparent and omopolymer+copolymer mixture Transparent et mélange omopolymère+copolymère	0 °C / +120 °C
	Con additivo bassa temperatura al 10% With 10% low temperature additive Avec additif basse température au 10%	-30 °C / +120 °C
Utilizzo / Use / Usage	Adatto al forno a microonde Suitable for microwave Micro-ondable	Adatto al confezionamento in atmosfera modificata (vuoto-gas) Suitable for vacuum packing (modified atmosphere) Adaptés à la conservation sous vide à gaz (atmosphère modifiée)

ATS si riserva di variare le caratteristiche dell'articolo in oggetto, che non compromettano le condizioni di utilizzo e le proprietà del prodotto realizzato (*), in funzione delle richieste di mercato e del miglioramento del prodotto stesso.

ATS can change the features of the product here described, not compromising the use conditions and the characteristics of the finished products (*), according to the market demand and to itself product improvement.

ATS se réserve de modifier les caractéristiques de l'article en objet, ne compromettant pas les conditions d'utilisation et les caractéristiques du produit fini (*), selon les demandes du marché et l'amélioration du produit même.

8.3. Medio cultivo mohos y levaduras

	Referencia : 01-366	Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos
	Producto : AGAR CLORAMFENICOL GLUCOSADO (CGA)	
		
Sinonimia		
Yeast Extract-Glucose-Chloramphenicol Agar; YGC Agar; Yeast Extract-Dextrose-Chloramphenicol Agar; YDC Agar.		
Especificación		
Medio sólido selectivo para el aislamiento y enumeración de hongos en leche y derivados lácticos de acuerdo a la norma ISO 7954 y a la norma FIL-IDF 94B.		
Fórmula * en g/L		
Dextrosa.....20,0		
Extracto de levadura.....5,0		
Cloramfenicol.....0,1		
Agar.....15,0		
pH final a 25°C, 6,6 ±0,2		
<small>*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación</small>		
Reconstitución		
Suspender 40 g de polvo en 1 L de agua destilada y dejar embeber. Llevar a ebullición y distribuir en contenedores adecuados. Esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C.		
Descripción		
Este medio sólido es el recomendado por la FIL-IDF (<i>Federation International Laitiere-International Dairy Federation</i>) para el aislamiento y enumeración de hongos (mohos y levaduras) en leche y productos lácteos. Posteriormente fue adoptado también por DIN e ISO en normas con la misma finalidad.		
El medio basa su selectividad en la acción bactericida del cloramfenicol que, por su estabilidad térmica, puede ser esterilizado al autoclave ya incorporado al medio. Además, el pH puede ajustarse próximo a la neutralidad, y así el medio puede sufrir varios refundidos sin que su estabilidad o eficacia se vea afectada, aunque los refundidos y sobrecalentamientos oscurecen ligeramente el medio.		
Técnica		
Generalmente se utiliza el método de siembra en masa o profundidad y una incubación a 22-25°C durante 4 -5 días.		



Referencia : 01-366

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

AGAR CLORAMFENICOL GLUCOSADO (CGA)



Control de calidad

Temperatura de incubación: 25°C ±2,0

Tiempo de incubación : 48 h-5 días

Inóculo: 10-100 UFC (Productividad) // 1.000-10.000 UFC (Selectividad). Método de recuento en placa con siembra en espiral (ISO/TS 11133-1/2)

Microorganismo

Bacillus cereus ATCC 11778

Escherichia coli ATCC 25922

Aspergillus niger ATCC 16404

Candida albicans ATCC 10231

Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763

Crecimiento

Inhibido

Inhibido

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Observaciones

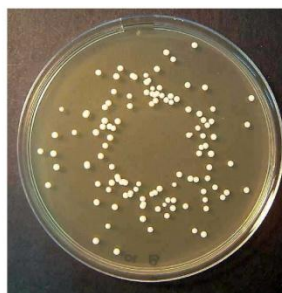
-

-

Esporulación negra a 5 días

-

-



Candida albicans ATCC 10231

Bibliografía

- DIN Standard 10186. Mikrobiologische Milch Untersuchung. Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen. Referenzverfahren.
- FIL-IDF 94B Standard (1991) Enumeration of yeast and moulds. Colony Count Technique at 25°C.
- ISO 7954 Standard (1987) General guidance for enumeration of yeast and moulds - Colony count at 25°C.
- ISO/TS 11133-1: 2009. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
- ISO/TS 11133-2: 2003 Corr. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).

8.4. Medio cultivo aerobio mesófilo, y psicrófilo y anaerobio mesófilo



Referencia : 01-161

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

AGAR DE RECuento EN PLACA (PCA)

Sinonimia

Trypticase Glucose Yeast Agar; TGY; TGY Agar; Standard Methods Agar, SMA; SM Agar

Especificación

Medio para la enumeración aeróbica en placas por el método de inoculación superficial según las normas ISO 4833, 8552 y 17410, y IFU N.º 6.

Fórmula * en g/L

Peptona de caseína..... 5,0
 Extracto de levadura..... 2,5
 Dextrosa..... 1,0
 Agar..... 15,0

pH final a 25°C 7,0 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Añadir 23,5 g del polvo a 1 L de agua destilada. Calentar hasta ebullición con agitación constante. Repartir en recipientes adecuados y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C.

Descripción

El Agar de Recuento en Placa sigue esencialmente las normativas del estudio de Buchbinder y cols. respecto a las características de un medio para el recuento general en placa de microorganismos de la leche.

La formulación inicial del agar normalizado para la bacteriología láctea se ha ido modificando para prescindir de la adición de leche hasta obtener una formulación capaz de permitir el crecimiento de la mayoría de microorganismos sin más adiciones.

El Agar de Recuento en Placa Scharlau se ajusta en su formulación a los prescritos por los "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" y Tryptone Glucose Yeast Agar de la USP, AOAC, DIN y APHA (Standard Methods Agar). En la actualidad éste es el medio de elección para el recuento en placa de cualquier tipo de muestra.



Referencia : 01-161

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

AGAR DE RECuento EN PLACA (PCA)

Técnica

A partir de una serie de diluciones decimales de la muestra a analizar, se toma 1 mL de cada dilución y por duplicado se depositan en placas de Petri estériles. A continuación se vierten alrededor de 20 mL del medio de cultivo, previamente enfriado a 45°C sobre cada una de las placas. Se mezcla suavemente, moviendo la placa en forma de ocho sobre una superficie plana y lisa. Una vez solidificadas se incuban en posición invertida.

El tiempo y la temperatura de incubación dependerán del tipo de microorganismos a enumerar. Para un recuento aeróbico general se incubará 3 días a 30°C, realizando también lecturas a las 24 y 48 horas.

El método de recuento propuesto por APHA es simplemente, un inóculo en masa por vertido del agar fundido a 50°C, sobre las placas donde se han depositado las diluciones de las muestras. La enumeración definitiva se lleva a cabo a las 48 horas de incubación a 32-35°C.

En otras ocasiones, en función del tipo de microorganismo buscado, se han recomendado otros plazos de incubación a distintas temperaturas por ejemplo: 2 días a 32-35°C, 2-3 días a 45°C, 2 días a 55°C, 3-5 días a 20°C ó 7-10 días a 5-7°C.

Las diluciones de muestras se preparan con solución Ringer 1/4 (Ref. 06-073), Agua de Peptonada Tamponada (Ref. 02-277), o Diluyente Universal (Ref. 02-510), según su naturaleza.

Se recomienda más el método de enumeración por inóculo en masa que el de extensión superficial ya que por lo general, suele dar resultados más altos, sin embargo el de superficie permite una mayor facilidad en el aislamiento y resiembra de las colonias.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 35°C ±2,0

Tiempo de incubación : 24-48 h

Inóculo: 10-100 UFC. Método de recuento en placa con siembra en espiral (según método ISO/TS 11133-1/2)

Microorganismo

Bacillus subtilis ATCC 6633

Enterococcus faecalis ATCC 19433

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Listeria monocytogenes ATCC 19114

Yersinia enterocolitica ATCC 9610

Escherichia coli ATCC 25922

Crecimiento

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Observaciones

-

-

-

-

-

-



Staphylococcus aureus ATCC 6538



Escherichia coli ATCC 25922



Enterococcus faecalis ATCC 19433



Referencia : 01-161

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

AGAR DE RECuento EN PLACA (PCA)

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- BUCHBINDER, L., Y. BARIS & L. GOLDSTEIN (1953) Further studies on new milk-free media for the standard plate count of dairy products. Am. J. Public Health 43:869-872.
- CLESCERI, L.S., A.E.GREENBERG and A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA, AWWA, WPCF. Washington.
- DIN 10192 (1971) Prüfungenbestimmungen für Milch und Milcherzeugnisse. Deutsche Landwirtschaft, Fachbereich Ernährung.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed., APHA, Washington.
- FIL/IDF Standards 3 (1958), 100, 101 (1981), 109 (1982) and 132 (2004).
- HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. AOAC International. Gaithersburg.
- IFU Method No 6 (1996) Mesophilic, thermotolerant and thermophilic bacteria: Spores Count. D-1 Mesophilic Aerobic Sporeforming bacteria: Spores count.
- ISO 4833 (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony count technique at 30°C.
- ISO 8552 (2004) Milk - Estimation of psychrotrophic microorganisms. Colony count technique at 21°C (Rapid method).
- ISO/TS 11133-1: 2009. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
- ISO/TS 11133-2: 2003 Corr. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.
- ISO 17410 (2001) Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.
- MARSHALL, R.T. (1992) Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. APHA. Washington.
- PASCUAL ANDERSON. M^a.R^o. (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).

8.5. Agua peptonada

	Referencia : 03-156 Producto : AGUA PEPTONADA	Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos	
Especificación			
Sustrato de bajo poder nutritivo para la investigación de la producción de indol en los coliformes según la norma ISO 7251.			
Fórmula * en g/L			
Peptona de caseína..... 10,0 Cloruro sódico..... 5,0			
pH final a 25°C, 7,2 ±0,2			
*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación			
Reconstitución			
Disolver 15 g del polvo en 1 L de agua destilada y distribuir en recipientes adecuados. Esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C.			
Descripción			
<p>El protocolo normalizado exige la resiembra de un asa de cada uno de los tubos sospechosos (presuntamente positivos) en 10 mL de Agua Peptonada precalentada a 45°C, que se incubará durante 48 horas a 44°C antes de investigar la producción de indol con el Reactivo de Kovacs para Indol (Ref. 06 018). Como método alternativo se puede utilizar el Reactivo de Ehrlich para manifestar la producción de indol. Tras 48 horas de incubación a 37°C se toman 0,5 mL del cultivo, se mezclan con 0,5 mL de Reactivo de Ehrlich y se deja reposar unos minutos. La aparición de un color rojizo se interpreta como una prueba positiva de la producción de indol. El desarrollo del color se puede acelerar si se añaden unas gotas de una solución saturada de persulfato potásico.</p> <p>Otros autores prefieren la extracción y concentración del indol con 1 mL de éter, y realizar la lectura sobre el extracto con cualquiera de los dos reactivos mencionados.</p>			
Control de calidad			
Temperatura de incubación: 35°C ±2,0 Inóculo: 100-1000 UFC		Tiempo de incubación : 24-48 h	
Microorganismo	Crecimiento	Observaciones	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Proteus hauseri</i> ATCC13315	Bueno Bueno Bueno Bueno Bueno	- Indol (-) Indol (+) Indol (+) Indol (+) / Indol (-) 44°C	
			
Izqda.: Tubo sin inocular (Control) Centro: <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 Dcha.: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		Izqda.: Tubo sin inocular (Control) Centro: <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 Dcha.: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	



Referencia : 03-156
Producto :
AGUA PEPTONADA

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Bibliografía

- APHA-AWWA-WEF (1998) Standard Methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. APHA. Washington. DC.
- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press Inc. London.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 4th ed. APHA. Washington.
- ISO 7251 Standard (2005) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* - Most Probable Number Technique.
- ISO/TS 11133-1: 2009. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
- ISO/TS 11133-2: 2003 Corr. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).